АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XVIII. ВЫП. 1

ЯНВАРЬ—ФЕВРАЛЬ

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1949

МИКРОБИОЛОГИЯ

Главный редактор академик Б. Л. Исаченко

Зам. главного редактора чл.-корр. Академии Наук СССР
А. А. Имшенецкий

Секретарь Я. И Раутенштейн,

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

А. Ф. Войткевич, Н. Д. Иерусалимский, Н. А. Красильников.
В. Н. Шапошников

ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ „МИКРОБИОЛОГИЯ“ ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, Б. ЧЕРКАССКИЙ ПЕР., 2, КОНТОРА „АКАДЕМКНИГА“.

Рукописи направлять по адресу:
Москва, Волхонка, 14, Издательство Академии Наук СССР,
редакция журнала «Микробиология»

АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XVIII

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1949

СУЩЕСТВУЕТ ЛИ АЗОТОБАКТЕР В ЛИШАЙНИКАХ?

Н. А. Красильников

В 1936 г. Генкель и Южакова [1] опубликовали свои исследования над развитием азотобактера в теле лишайников. Они обнаружили азотобактер у 5 видов лишайников из шести исследованных.

Позднее Генкель [2] расширил свои исследования. Им были изучены 16 видов лишайников и у всех он выявил наличие азотобактера. На основании своих исследований автор приходит к заключению, что данный азотофиксатор является постоянным спутником лишайников, и рассматривает его как третий компонент лишайникового симбиоза. Такая точка зрения воспринимается некоторыми авторами как вполне установленное, закономерное явление в жизни лишайников (Курсанов [4], Ярилова [5], Исаченко [3] и др.).

В свете изложенного мы обратили особое внимание на присутствие азотобактера при изучении микрофлоры лишайников. Были предприняты специальные исследования различных образцов лишайников, собранных нами в 1947—1948 гг. в разных районах Армении и в окрестностях Москвы. Лишайники собирались с поверхности горных пород, на ветвях и стволах различных деревьев и на поверхности почв. Сбор производился весной, осенью и в зимнее время. Мы также обследовали образцы лишайников, полученные от проф. В. П. Савич и собранные его сотрудниками в период 1942—1946 гг. в разных частях Советского Союза (Крайний Север, окрестности Ленинграда, остров Сахалин и полупустынные почвы близ Ашхабада). Всего было исследовано около 250 образцов разных лишайников, видовой состав которых представлен в прилагаемой таблице [1].

Значительная часть лишайников обследовалась в свежем состоянии — в день сбора или на 2—3-й день после сбора. Те образцы, которые не могли тут же исследоваться, высушивались и упаковывались в стерильные пакеты.

Первые посевы на азотобактер производились обычным приемом, принятым в этих случаях. Кусочки лишайника тщательно растирались в капле стерильной воды и затем высевались на безазотистый агар или гелевые пластинки, пропитанные составом Бейеринка или Эшби.

Посев производился путем размазывания шпателем капли взвеси растертого лишайника и одновременно путем наложения мелких комочков его на поверхность среды. Засеянные чашки помещались в термостат при температуре 25°, часть чашек хранилась при комнатной температуре 17—18°. Просмотр чашек производился на 3,5 и 10-е сутки, а в отдельных случаях чашки хранились до 30 дней.

Все проведенные исследования дали отрицательный результат; азотобактер ни в одном случае не был обнаружен.

В высевах отдельных образцов лишайников вырастали колонии, похожие несколько на слизистые колонии азотобактера. Однако при

---

[1] Значительная часть образцов была определена проф. В. П. Савичем, за что считаю долгом выразить ему благодарность.

Таблица

Название организма	Место, откуда выделен, и год
Acarospora fuscata (Nyl.) Arn.	Армения 1947 г.
» alba (Schrad). Oxn.	Кавказ 1947 г.
» dealbata (Nyl.) Elenk.	» 1947 »
Aspicilia esculenta Mer.	Окрестности Москвы 1948 г.
» fruticulosa Mer.	» » 1948 »
Candelaria concolor (Dicks.) Wain.	» » 1948 »
Candelariella vitellina (Ehrh.) Müll.	Армения 1947 г.
Cladonia alpestris (L.) Rabenh.	Средняя полоса Сов. Союза 1948 г.
» amaurocraea (Flk.) Schaer.	» » » » 1948 »
» crispata (Ach.) Flot.	» » » » 1948 »
» convoluta (Lam.) Suza	» » » » 1948 »
» cornuta (L.) Schaer.	» » » » 1948 »
» deformans Hoffm.	» » » » 1948 »
» fimbriata (L.) Fr.	» » » » 1948 »
» floerkeana (Fr.) Sommer.	» » » » 1948 »
» pyxidata (L.) Fr.	» » » » 1948 »
» rangiferina (L.) Web.	» » » » 1948 »
» sylvatica (L.) Hoffm.	» » » » 1948 »
Cetraria islandica (L.) Ach.	» » » » 1948 »
» nivalis (L.) Ach.	» » » » 1940 »
Diploschistes ocellatus (Will.) Norm.	Кавказ 1947 г.
Evernia furfuracea (L.) Mann.	Средняя полоса Советского Союза 1948г.
» prunastri (L.) Ach.	» » » » 1948 г.
Fulgensia fulgens (Sw.) Ach.	Кавказ 1947 г.
Gyrophora vellea (L.) Ach.	» 1947 »
Lecanora allophana (Ach.) Nyl.	Средняя полоса Советского Союза 1948 г.
Lecidea lithophila (Ach.) Th.	» » » » 1940 »
Leptogium saturninum (Dicks.) Nyl.	» » » » 1948 »
Lobaria pulmonaria (L.) Hoffm.	» » » » 1940 »
Nephroma arcticum (L.) Tuckm.	» » » » 1940 »
Parmelia physodes (L.) Ach.	Средняя полоса Советского Союза 1940—1948 гг.
Parmeliopsis aleurites Lett.	Кавказ 1947 г.
Peltigera canina (L.) Hoffm.	Средняя полоса Советского Союза 1948 г.
» erumpens (Tayl.) Wain.	» » » » 1948 »
» spruia Dc.	» » » » 1948 »
Physcia pulverulenta (Scheb.) Nyl.	» » » » 1940 »
Placodium lentigerum (Web.) Gray.	Кавказ 1947 г.
Psora decipiens (Ehrh.) Hoffm.	Кавказ и средняя полоса Советского Союза 1940 г.
Ramalina polinariella Nyl.	Кавказ и средняя полоса Советского Союза 1947 г.
Rhizocarpon geographicum (L.) Dc.	Кавказ и средняя полоса Советского Союза 1947 г.
Usnea florida (L.) Mod.	Кавказ и средняя полоса Советского Союза 1947 г.
« Barbata (L.) Hoffm.	Средняя полоса Советского Союза 1940—1947 г.
» longissima (L.) Ach.	Средняя полоса Советского Союза 1940—1948 г.

Кроме перечисленных здесь видов, было исследовано более 50 образцов лишайников, которые остались не определенными в систематическом отношении.

микроскопировании и последующими отсевами на питательные среды выявлялось, что эти колонии образованы либо спороносными или неспороносными бактериями, либо микобактериями, но не азотобактером.

В нескольких случаях мы имели азотобактероподобные бактерии. Колонии и клетки их были похожи на таковые азотобактера. Однако при дальнейшем исследовании легко было установить, что к последним они не относятся.

После этих исследований мы перешли к методу накопительных культур. Образец лишайника, измельченный в тонкий порошок, засевался в питательный безазотистый раствор Бейеринка, разлитый в колбы Эрленмейера по 50 см³. Спустя 10—12 дней, когда в нем заметно развивалась микрофлора, производился пересев в свежий раствор того же состава, а через последующие 7—10 суток — второй пересев. После 2—3 таких последовательных пересевов производился из колбы посев на агаризованную среду Эшби. Одновременно жидкая культура подвергалась тщательному микроскопированию.

В этих опытах нам также не удалось обнаружить азотобактера. Посевы накопительных культур на безазотистых средах давали обилие бактериальной флоры и ни разу искомого микроба. При микроскопировании накопительных культур иногда встречаются клетки, напоминающие азотобактер. При высеве на питательные среды выяснилось, что в большинстве случаев такие клетки относятся к спороносным бактериям.

Третья серия исследований производилась путем высева лишайников на синтетические агаризованные среды Бейеринка и Эшби с прибавлением в одних случаях небольших доз нитратного азота, в других — дополнительных ростовых веществ и в третьих — отвара лишайников. Эти опыты были поставлены по соображениям того порядка, что в лишайниках может оказаться особый вид азотобактера, приспособленный к специфическим условиям существования, где имеются и азот связанный и различные ростовые или стимулирующие вещества. Результат этих исследований был отрицательный — азотобактера мы не обнаружили.

Нами был проведен тщательный микроскопический анализ почти всех образцов лишайников. Кусочки лишайника мелко измельчались, а в некоторых случаях производился тонкий срез бритвой; препараты исследовались под микроскопом после окрашивания или неокрашенные, свежие и высушенные. Нам не удалось этим способом обнаружить клеток азотобактера.

Наконец, чтобы выяснить возможность развития азотобактера в лишайниках, мы произвели специальный опыт искусственного заражения их чистой культурой данного микроба.

Опыт производился в Армении в конце октября и в начале ноября 1947 г. Близ Еревана была выбрана каменная глыба базальта, сплошь покрытая толстым налетом разных видов лишайников. Последние были смочены взвесью азотобактера (Az. chroococcum), выделенного из местных почв. Спустя 5 дней были взяты пробы опытного лишайника и посеяны на безазотистой среде Эшби. Азотобактер был обнаружен в небольшом количестве (1 000 клеток на 1 г сырого веса лишайника). Через 10 суток произведен повторный анализ опытных лишайников. Азотобактер обнаружился в единичных случаях, а через 15 дней был проведен более подробный анализ. Взяты были 10 образцов лишайников из разных участков опытной глыбы и каждый исследовался отдельно на присутствие в нем азотобактера.

Только в одном образце при высеве на безазотистые агаризованные среды была обнаружена одна колония азотобактера. По об-

щим признакам она не отличалась от колоний той самой культуры, которая была внесена в лишайники. Такой же опыт был проведен летом 1948 г. под Москвой на лишайниках, растущих на стволах деревьев (осины и березы). Накипные и кустистые лишайники смачивались взвесью культуры местного азотобактера. Через 20 и 30 суток брались образцы этих лишайников и исследовались на азотобактер. На 30-е сутки азотобактер не обнаруживался — он был полностью устранен из слоевища лишайника.

Из данных опытов видно, что азотобактер, нанесенный на поверхность лишайников, не только не прижился, но сравнительно быстро погиб или был вытеснен другой микрофлорой, которая развивается там в изобилии, о чем будет сообщено в специальной статье.

Следует отметить, что в период опыта погода была не слишком жаркая, часто выпадали дожди, так что для приживаемости и развития азотобактера были благоприятные условия.

На основании своих исследований мы приходим к заключению, что азотобактер не обитает в теле лишайников и нет оснований считать его симбионтом лишайников. Если в отдельных случаях некоторые авторы и находили его, то, повидимому, он был случайным организмом. Не исключается возможность, что некоторые авторы имели дело с азотобактероподобными организмами, которые, как указывалось выше, микроскопически похожи на клетки азотобактера. Наш опыт показывает, что азотобактер не только не развивается в теле лишайников, но при искусственном внесении быстро там вытесняется и погибает.

Выводы

1. В целях обнаружения азотобактера было обследовано около 250 образцов различных лишайников, собранных в разных районах Советского Союза.

2. Для обнаружения азотобактера применялись разные методы: а) агаровые пластинки по Эшби и Бейеринку, б) гелевые пластинки по Виноградскому, в) метод накопительных культур, г) среды с дополнительными источниками питания и д) метод микроскопического анализа.

3. Ни в одном случае нам не удалось обнаружить азотобактера. В некоторых образцах лишайников встречаются азотобактероподобные бактерии.

4. Внесенный в тело лишайников азотобактер не развивается там и быстро погибает.

Получено 5.X.1948

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

ЛИТЕРАТУРА

1. Генкель П. и Южакова Л. Азотфиксирующие бактерии в лишайниках. Изв. Перм. биол. н.-иссл. ин-та при Перм. гос. ун-те, 10, вып. 9—10, стр. 315, 1936.
2. Генкель П. О лишайниковом симбиозе. Бюлл. Моск. об-ва исп. природы. Отдел. биологии, XVII, вып. 1, стр. 13, 1938.
3. Исаченко Б. Достижения и задачи советской микробиологии. Вестник АН СССР, № 5, стр. 18, 1948.
4. Курсанов Л. Курс низших растений, Москва, 1945.
5. Ярилова Е. Роль лишайников в выветривании массивно-кристаллических пород. Почвоведение, № 9, стр. 533, 1947.

АНТАГОНИСТИЧЕСКИЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ МЕЖДУ Penicillium notatum и Bacillus subtilis

М. О. Стрешинский

Уже в первых исследованиях действия пенициллина на различные микроорганизмы было установлено, что Bacillus subtilis — микроорганизм, чувствительный к данному антибиотическому веществу. Дальнейшие исследования показали, что ряду культур Bac. subtilis свойственна способность выделять пенициллиназу — вещество ферментного характера, инактивирующее пенициллин (Ungar [4]). Это дало возможность использовать данную группу микроорганизмов наряду с некоторыми другими формами для практического получения пенициллиназы. С другой стороны, в литературе описан ряд случаев, когда многие микроорганизмы группы Bac. subtilis служили продуцентами антибиотических веществ, обладающих бактериостатическим, а в больших концентрациях и бактерицидным действием как in vitro, так и in vivo (Oliver [1], Salle and Jann [2, 3]).

В последней работе [3] приводятся данные действия субтилина на некоторые почвенные грибы. Из десяти испытанных видов грибов четыре оказались чувствительными к данному антибиотическому веществу, шесть — нечувствительными. Среди последних и Penicillium notatum.

В настоящей работе приводятся некоторые наблюдения над взаимоотношениями между Penicillum notatum и микроорганизмом Bac. subtilis при совместной культуре на искусственных средах. Условия выделения данной культуры Bac. subtilis из почвы описаны ниже.

Изучая литический распад мицелия пенициллиумов в почве, мы установили, что живая мицелиальная пленка любого вида пенициллиума, выращенная на жидкой среде в стерильных условиях, способна месяцами хорошо сохраняться на поверхности увлажненной стерилизованной почвы. В то же время эта же мицелиальная пленка, помещенная в тех же условиях на почве не стерилизованной, быстро теряет свою нормальную окраску и консистенцию и через 15—40 дней в зависимости от почвы нацело лизируется. Литический распад грибного мицелия на нестерильной почве связан с действием микрофлоры последней. Если под мицелий гриба, помещенного в чашку со стерилизованной почвой, внести небольшую частицу нестерильной почвы или частичку мицелия, лизировавшегося в нестерильной почве, процессы лизиса грибной пленки и в этих условиях происходят энергично.

Исследования микрофлоры такого лизированного мицелия показали значительное численное преобладание одной формы, по своим морфологическим и культурным особенностям определенной нами как микроорганизм из группы Bac. subtilis. Данная культура Bac. subtilis чувствительна к действию пенициллина. При испытании чувствительности ее к пенициллину чашечным методом при помощи наполненных активной средой цилиндриков или кружочков бумаги, пропитанных ею, вокруг стерильной зоны образуется 2—3-миллиметровая зона подавленного роста, где наряду с нормальными клетками имеют-

ся в большом количестве клетки инволютивные (рис. 1). Способность выделять пенициллиназу у данной культуры не установлена.

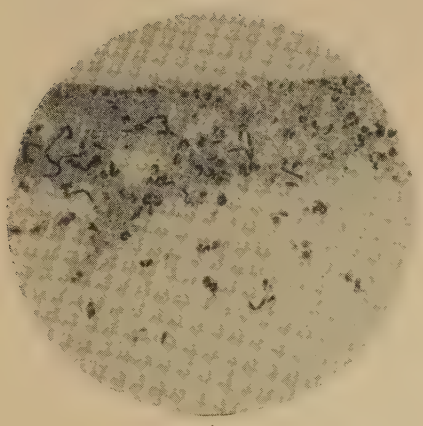
Естественно, что возник интерес к изучению влияния данного микроорганизма на растущий мицелий гриба. Методика работы заключалась в следующем: в пробирку с 2 мл питательной среды вносились конидии Penicillium notatum культура № 1249 и бактерии, чаще всего смытые стерильной водой с 24-часовой культуры на агаре. Взвесь бактерий предварительно доводилась разбавлением до определенного содержания бактериальных тел на единицу объема. Определение количества бактериальных клеток в единице объема проводилось по бактерийному стандарту, полученному из Государственного контрольного института им. Тарасевича. Взвесь конидий гриба и бактерий высевалась петлей на твердые среды или стерильными стеклянными капиллярами наносились капли на покровные стекла для наблюдения взаимодействия между этими микроорганизмами в висячих каплях. Питательной средой служил МПБ, в некоторых случаях картофельный отвар и настой пшеничных отрубей.

При совместной культуре Penicillium notatum с бактериями в висячей капле МПБ на начальных этапах роста грибных проростков бактерии активно осаждают молодые гифы, располагаясь вокруг них сплошным чехлом. В некоторых случаях бактерии концентрируются вокруг гиф в очень больших количествах, образуя мощные скопления в виде кистей (рис. 2). Однако очень быстро в капле начинают возникать изменения: уже через 30—40 часов бактерии теряют подвижность, начинают менее преломлять свет, агрегируются в небольшие кучки. Через 50—55 часов начинается интенсивный лизис бактериальных клеток, приводящий к полному растворению бактерий в капле. Рис. 3—6 показывают некоторые этапы этого процесса. Вероятно, лизис бактерий связан с выделением грибом пенициллина. Контрольные опыты, проведенные с неактивными культурами пенициллиума, показали, что в этих случаях бактерии в каплях не лизируются, наоборот, они остаются интенсивно подвижными значительно дольше, чем культура только одних бактерий в капле того же объема. В то же время Penicillium chrysogenum Q. № 176, активность которого на жидких средах выше, чем у Penicillium notatum, вызывал в наших опытах лизис бактерий в сроки, значительно более короткие.

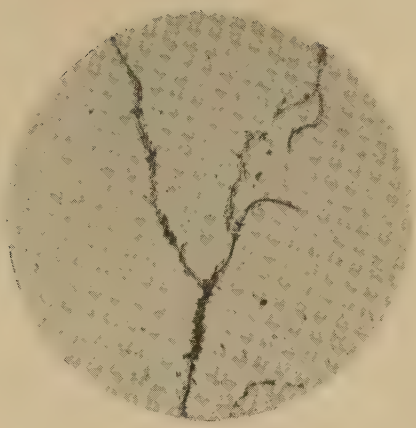
Очищенный пенициллин в концентрациях до 100 единиц в 1 мл не дал четкой картины лизиса бактериальных клеток.

Наблюдения над действием гиф Penicillium notatum на бактерий в висячей капле показали, что первое время выделения гиф активируют движения бактерий. Рядом с каплей МПБ, зараженного бактериями, наносилась капля бульона с конидиями Penicillium notatum. Разросшийся гриб врастал некоторыми гифами в каплю с бактериями. Как только гифа достигала капли с бактериями и проходила внутрь ее в частях, прилегающих к вросшей гифе, начиналось интенсивное движение. Бактерии направлялись навстречу растущей гифе. По образовавшемуся небольшому канальцу жидкости, соединяющему обе капли, бактерии продвигались вдоль гифы, заполняя соседнюю каплю. Движения бактерии вокруг гиф были значительно более интенсивными, чем обычное движение клеток данной культуры в каплях той же питательной среды, при той же температуре. Однако уже через 2—3 часа активность движения резко падает, меняется преломляемость света бактериальными клетками; через 5—6 часов наступает лизис бактерий.

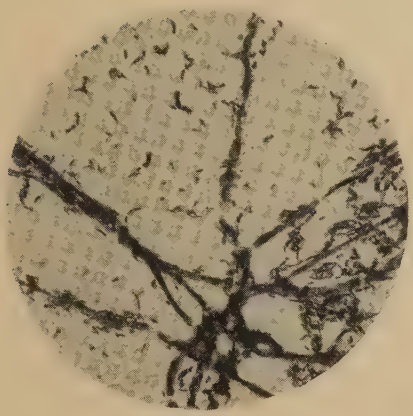
Если проследить за дальнейшей судьбой гифы, вросшей в каплю, где были бактерии, можно установить, что, несмотря на быстрый и полный лизис бактериальных клеток в капле, дальнейший рост мицелия резко отличается от роста других гиф этой же колонии: гифы



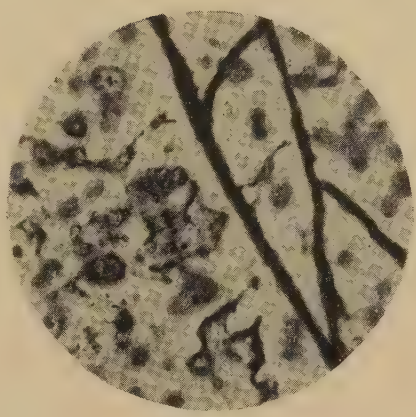
1



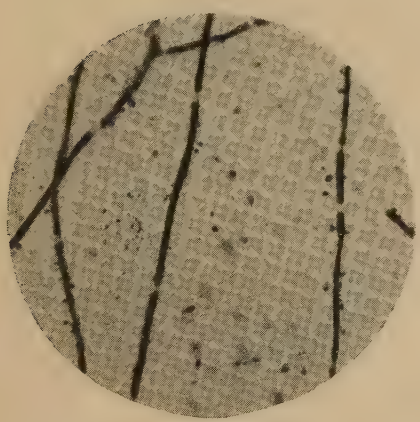
2



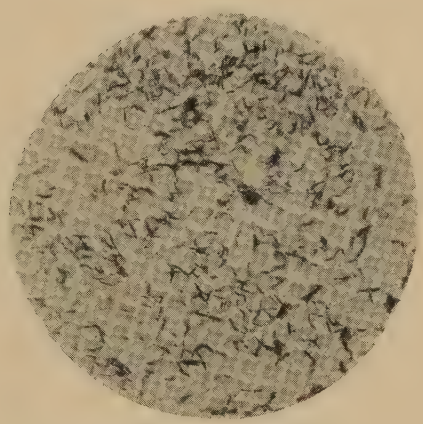
3



4



5



6

Рис. 1. Образование инволютивных форм Bac. subtilis под влиянием малых концентраций пенициллина

Рис. 2. Бактерии, облепившие гифы Penicillium notatum

Рис. 3. Совместная культура P. notatum с бактериями в висячей капле МПБ через 35—40 часов

Рис. 4. Та же культура через 55—60 часов

Рис. 5. Та же культура через 70—75 часов

Рис. 6. Контроль. 72-часовая культура бактерий в капле бульона

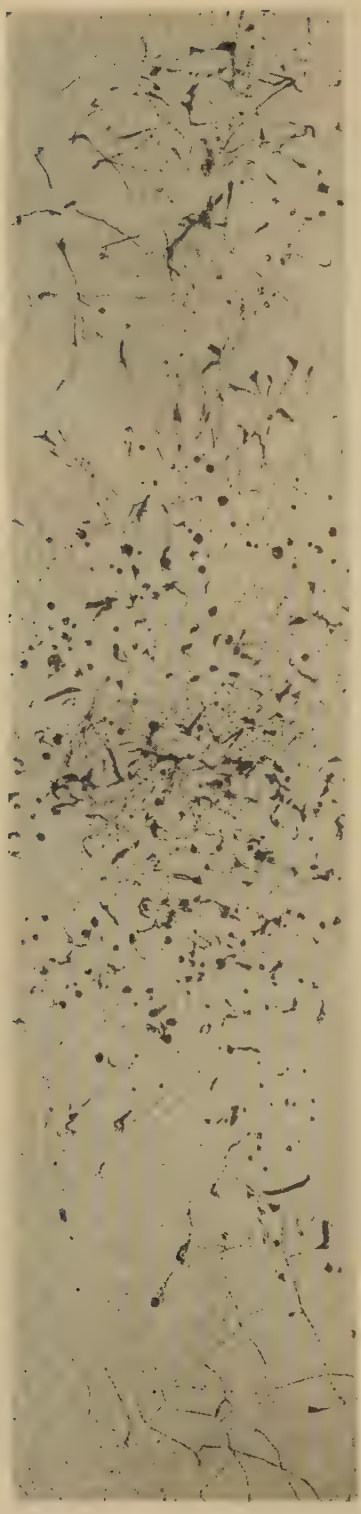


Рис. 7. В центре мицелий P. notatum в капле МПБ; слева гифы вросли в каплю МПБ с бактериями, справа гифы вросли в каплю стерильного бульона

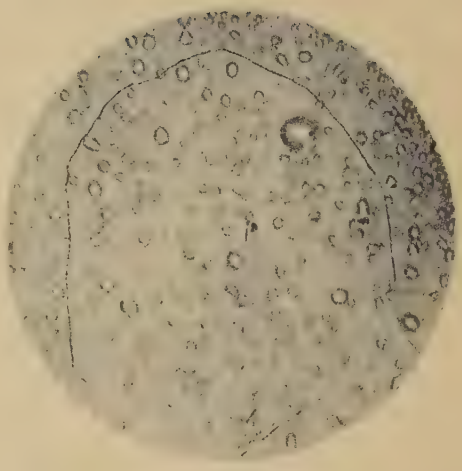


Рис. 8. 96-часовой проросток конидий P. notatum в капле МПБ с бактериями

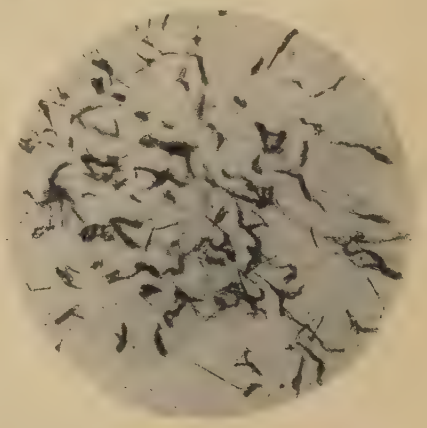


Рис. 9. Контроль. 96-часовой мицелий, выросший из одной конидии в капле стерильного бульона

значительно тоньше, содержимое грибных клеток становится более зернистым, ветвление слабое, конидиеношение не наступает совсем либо образуются одиночные, сильно упрощенные метелки с небольшими цепочками конидий (рис. 7).

Еще большее влияние оказывают бактерии на процесс прорастания конидий и начальный рост проростков.

Таблица

Влияние Bac. subtilis на начальный рост Penicillium notatum,. (длина 19-часовых грибных проростков)

№ п.п.	Вариант	Количество конидий в капле	Количество бактерий	Максимальная длина проростков	Минимальная длина проростков	Количест. измерен. проростков n	Средняя величина проростков $\bar{x}$	cv	$\frac{diff}{indiff}$
1	Конидии P. notatum	70—90	—	463 μ	164 μ	59	280,5 ± 10,3	79,4%	9,6
2	Конидии P. notatum в смеси с бактериями . .	70—90	25 млн. на 1 мл	328 μ	19 μ	121	133,5 ± 6,8	74,71%	

В таблице приведены данные одного опыта по измерению длины проростков конидий Penicillium notatum в висячих каплях МПБ. Как уже указывалось выше, конидии вносились в 2 мл стерильного бульона. После нанесения контрольных капель — без бактерий в среду добавлены бактерии, в данном случае до концентрации 25 мл. бактериальных тел на 1 мл среды, и нанесены капли опытные, содержащие конидии Penicillium notatum и бактерий. Измерения произведены через 19 часов после начала опыта.

Из таблицы видно, что рост проростков в каплях с бактериями значительно отстает от роста их в контрольных каплях. Приведенная статистическая обработка материала вполне доказывает достоверность этих различий.

Следует отвести возможное предположение, что при совместном росте с бактериями проростки гриба отстают в росте из-за недостатка питательных веществ, поглощаемых из капли бактериями. Как видно из излагаемого ниже, рост мицелия идет тем лучше, чем больше конидий в капле при той же концентрации бактерий, что никак не могло бы иметь место, если бы причиной отставания в росте был бы только недостаток питательных веществ.

Рис. 8 показывает рост одного грибного проростка в капле с бактериями; вместо ветвящегося мицелия — длинная тонкая нить, не давшая конидиеносцев. Максимальная толщина этой гифы 3,2 μ вместо 6,2 μ в контроле.

Отчего же зависит конечный результат этого взаимоантагонистического влияния обеих форм друг на друга? Чем определяется исход борьбы между обеими формами — будут ли бактерии лизированы или, наоборот, гриб окажется в столь подавленном состоянии, что не образует репродуктивных органов? В наших опытах этот исход зависел от численного соотношения между обоими компонентами. Низшая исходная концентрация бактерий во взвеси с конидиями гриба, которая применялась в данной работе, была примерно 25 млн. бактериальных тел на 1 мл среды. В этих условиях гриб разрастался, лизировал бактерий и переходил к образованию конидий только в тех

случаях, когда количество проросших конидий в капле было не меньше 6—8; там, где количество их было меньше этой величины, гриб не достигал нормального развития. По мере увеличения количества бактерий в среде эта пороговая величина минимального количества конидий, обеспечивающих возможность образования конидий, также возрастала.

Если конидии гриба вносились в среду, в которой предварительно в течение 20—24 часов культивировались бактерии, гриб не достигал нормального развития при любом количестве конидий в капле. Однако в этом случае при высоких концентрациях гриба — около 100 конидий на каплю,— бактерии в капле лизировались и мицелий давал некоторое количество сильно упрощенных метелок с конидиями. При более низких концентрациях конидий проростки оставались слабо ветвящимися, не переходя к образованию конидиеносцев.

Выводы

Выделенный из почвы микроорганизм группы Bac. subtilis при совместной культуре в висячих каплях с Penicillium notatum лизируется грибом. В свою очередь бактерии оказывают угнетающее действие на гриб: задержка роста, скудное ветвление, отсутствие образования конидий. Конечный результат этих взаимоантагонистических отношений зависит от количественного соотношения конидий гриба и клеток бактерий в культуре.

Получено 23.V.1948

Институт генетики
Академии Наук СССР
Москва

ЛИТЕРАТУРА

1. Oliver H. Biological properties of Bac. subtilis. Nature, **157**, No. 3982, 238, 1946.
2. Salle A. and Jann G. Subtilin an antibiotic produced by Bac. subtilis. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., **60**, 60, 1945; **61**, 23, 1946; **62**, 40, 1946; **63**, 41, 1946; 63, 519, 1946.
3. Salle A. and Jahn G. The Effect of subtilin in the treatment of experimental infections in animals. J. Bact., **51**, 592, 1946.
4. Ungar J. Penicillinase from Bac. subtilis. Nature, 154, No. 3903, 236, 1944.

О МЕХАНИЗМЕ ДЕЙСТВИЯ НА МИКРОБНУЮ КЛЕТКУ ЧЕТВЕРТИЧНЫХ АММОНИЙНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

М. Н. Мейсель и *В. П. Уманская*

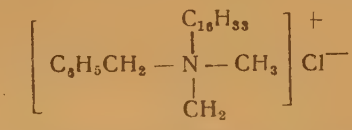
Структурная организация клетки, как известно, обеспечивает координированное и гармоничное протекание энзиматических процессов, лежащих в основе клеточной жизнедеятельности. Изменение клеточных функций, их угнетение и подавление обычно происходят под влиянием воздействий, резко отличающихся по интенсивности от тех, которые достаточны для угнетения и подавления активности соответствующих энзиматических препаратов, выделенных из клеток. Это объясняется в первую очередь тем, что клетка реагирует на внешние воздействия не как совокупность энзимов, а как сложная структурная система, отдельные структурные компоненты которой либо более ранимы, либо более устойчивы, чем входящие в их состав энзимы. Вследствие этого изучение механизма действия того или иного внешнего фактора не может ограничиваться, как то часто делается, анализом влияния этого фактора на изолированные энзиматические системы, а должно включать и функционально-морфологические исследования реакции всего клеточного протопласта.

Такое исследование выгоднее проводить на более дифференцированных клетках, обладающих выраженными клеточными структурами. Эти объекты могут служить моделями; изучая их реакции, можно в ряде случаев вскрыть характер процессов, протекающих и в менее дифференцированных организмах. Непременным условием при такого рода моделировании должен являться общий тип реакции на данное воздействие как модельных организмов, так и тех, на которые результаты исследования распространяются. При сравнительном изучении действия ряда бактериостатических и бактерицидных веществ выяснилась принципиальная однотипность их воздействия на бактерии, грибы и водоросли. Так обстоит дело, например, с сульфамидными препаратами (Brian [11]; Мейсель и Заварзина [5]). Поэтому механизм действия сульфамидов выгоднее изучать на более крупных и дифференцированных организмах. То же относится к бактерицидным агентам, таким, как грамицидин S. По нашим данным, действие грамицидина на дрожжевые организмы в общем крайне схоже с его действием на бактерии. Мы считаем поэтому существенным для понимания особенностей бактериостатического, бактерицидного и бактериолитического эффектов изучение этих явлений на более крупных и дифференцированных модельных организмах с учетом, естественно, той специфичности и тех особенностей, которые определяются степенью организации и дифференцировки клетки-организма.

Настоящее исследование посвящено бактерицидному и бактериолитическому действию своеобразного класса дезинфицирующих мылообразных веществ с низким поверхностным натяжением в растворах так называемых четвертичных аммонийных соединений или детергентов. Эти вещества получили в настоящее время некоторое распространение как хорошие дезинфекторы, безвредные для человека и животных. Имеются данные об успешном их применении для дезинфекции посуды

и аппаратуры на предприятиях пищевой промышленности и для обработки кожи и инструментов в хирургической практике (Huyck [13]; Valko [18]). У нас синтезом бактерицидных четвертичных аммонийных соединений занимался Браз [1]. В нашем распоряжении было весьма активное вещество этого класса, катионного типа — цетил-зефирол (точнее цетил-диаметил-бензил-аммоний-хлорид), детально изученное ранее одним из нас в отношении бактериостатического и бактерицидного действия (Уманская [9]).

Химическое строение этого вещества следующее:



Известно, что четвертичные аммонийные соединения резко угнетают обмен веществ бактерий (Baker, Harrison и Miller [10]) и дрожжевых организмов (Sevag и Ross [15]) и что понижение ими поверхностного натяжения само по себе не может объяснить бактерицидный эффект. Существенное значение принадлежит молекулярному весу соединения и, в частности, длине цепочки алкильной группы соответственных веществ; высокой бактерицидной активностью обладают те соединения, алкильная группа которых содержит от 9 до 16 атомов углерода (Shelton, van Campen и Nisonger [16]). Особенно интересно их действие на белки и липоиды (фосфолипоиды); четвертичные аммонийные соединения обладают способностью связываться с этими веществами и их денатурировать. Белки и липоиды, находящиеся в среде, значительно понижают эффективность этих антисептиков, адсорбируя их на себе. Однако действие детергентов не может быть объяснено непосредственной денатурацией ими белков клеточной протоплазмы; бактерии гибнут при концентрации этих веществ, во много раз меньшей той, которая денатурирует белки in vitro. Следовательно, в живой бактериальной клетке должны быть какие-то более чувствительные компоненты или структуры, поражаемые четвертичными аммонийными соединениями. Наблюдаемый при использовании этих соединений цитолитический эффект на основании теоретических соображений пытаются объяснять следующим образом. Поверхностно активные ионы антисептика соединяются с противоположно заряженными поверхностями клеточной мембраны и на ней накапливаются, вызывая необратимые изменения в этой мембране, сказывающиеся на ее проницаемости, что приводит в свою очередь к выхождению из клеток растворимых азотистых и фосфорных соединений, т. е. к процессу, напоминающему гемолиз эритроцитов. Это заканчивается смертью клетки без видимых нарушений ее структурной организации, после чего начинается автолиз, протекающий с разной скоростью в зависимости от вида микробов (Hotchkiss [12]). Прямые доказательства такого механизма, однако, отсутствуют. Отдельные стороны клеточной реакции на четвертичные аммонийные соединения пробовали трактовать как результат инактивирования определенных энзимов, особенно окислительных; остается все же неясным, в какой мере это инактивирование первично и ответственно за последующие явления.

Таким образом, механизм действия этой своеобразной и интересной группы антисептических агентов, приводящих к отмиранию и лизису микробов, не может считаться выясненным. Между тем особенности взаимодействия четвертичных аммонийных соединений и компонентов клеточного протопласта имеют принципиальное значение как для выяснения точек приложения веществ этого класса, так и для углубления понимания соотношения клеточных структур и функций.

Рис. 1а

Рис. 1б

Рис. 1в

Рис. 1. Изменения живых клеток Endomyces Magnusii под влиянием цетил-зефирола.

1а — нормальные клетки исходной культуры; 1б — измененные клетки после обработки цетил-зефиролом (1 : 100 000) : резкое ожирение и сжатие протопласта; 1в — лизис протопласта

Для решения этих вопросов мы прибегли к модельным опытам, использовав хорошо изученный нами дрожжеподобный организм Endomyces Magnusii. В настоящей статье изложены данные преимущественно цитологических наблюдений.

Методика цитологических исследований была детально описана в наших предшествующих сообщениях; мы ограничимся поэтому только кратким перечнем примененных методов. Наряду с прижизненными наблюдениями над изменениями клеток под воздействием цетил-зефирола мы использовали прижизненную окраску зеленым янусом и нейтральной красной для выявления хондриосом и волютина (Мейсель [4]), прижизненную обработку клеток флуорохромами для последующего флуоресцентно-микроскопического изучения ранних стадий изменений протопласта (Мейсель и Заварзина [6]), фиксацию и окраску по методу Гейденгайна, видоизмененную одним из нас (Мейсель [4]) для получения постоянных цитологических препаратов. Поглощение культурами кислорода и выделение двуокиси углерода определялось обычными методами, с помощью аппарата Варбурга и микробродильного прибора Одинцовой.

Общая характеристика клеточных изменений

Мы уже отмечали, что дрожжевые организмы оказались примерно столь же чувствительными к четвертичным аммонийным соединениям, как и бактерии. В наших опытах бактериостатический эффект наблюдался уже в разведениях цетил-зефирола 1 : 120 000 — для Endomyces Magnusii и 1 : 250 000 для Torulopsis latvica. При культивировании дрожжевых организмов на искусственной сахаро-минеральной среде Ридер устойчивость культур в отношении цетил-зефирола повышалась в том случае, когда среда была полноценной в отношении витаминов.

Цетил-зефирол в концентрациях 1 : 10 000 — 1 : 20 000 быстро губит дрожжевые организмы даже в присутствии 10% кровяной сыворотки. Существенной чертой действия этого дезагента является 100% гибель микробов и отсутствие более резистентных к нему клеток; культура отмирает вся целиком.

Мы изучали непосредственно под микроскопом действие различных концентраций цетил-зефирола на отдельные клетки Endomyces Magnusii. Для этих опытов двухдневные культуры, выросшие на сусле или сусло-агаровой среде, отделялись от среды, промывались стерильной водопроводной водой и суспензии клеток из таких культур (рис. 1, *а*) соединялись непосредственно на предметном стекле с раствором цетил-зефирола. Конечные концентрации этого вещества составляли от 1 : 10 000 до 1 : 300 000. Первая из этих концентраций вызывала стремительную гибель клеток в течение 1—2 минут; детали процесса при такой его скорости уловить было трудно. Вследствие этого мы чаще пользовались концентрациями 1 : 40 000 — 1 : 100 000; в этих случаях процес развивался медленнее и можно было проследить шаг за шагом основные клеточные изменения. Первое, что отмечается при обычной микроскопии,— это резкое усиление вакуолизации клеток под влиянием цетил-зефирола. Протоплазма становится крупноячеистой, как бы вспенивается, стенки ячеек уплотняются, желатинизируются, начинают более резко преломлять свет. Далее наступает стадия некоторого сжатия протопласта и плазма при этом становится мелкоячеистой. Сжатие протопласта усиливается, в нем появляются капельки липоидов, ячеистые структуры в плазме исчезают и заменяются мелкозернистыми. Сжатие протопласта столь значительно, что он отделяется от клеточной оболочки, давая картину, напоминающую резкий плазмолиз (рис. 1, *б*). Однако это состояние уже необратимое. Прижизненная окраска зеленым янусом и нейтральной красной позволяет выявить дальнейшие

детали клеточных изменений. Они касаются в первую очередь хондриосомного аппарата. Уже на ранних стадиях клеточной реакции в хондриосомах возникают вакуоли и мелкие капельки липоидов (липофанероз). В дальнейшем эти органоиды разбухают, приобретают неправильную колбовидную или шаровидную форму, основная часть их теряет способность окрашиваться зеленым янусом и краска остается лишь по периферии структур. В дальнейшем хондриосомы распадаются, распыляются на мелкие зернышки и растворяются в протоплазме. Последняя начинает усиленно адсорбировать краску и диффузно окрашиваться либо в синий цвет — от януса, либо в розовый — от нейтральной красной. В то время как протоплазма и ее органоиды претерпевают столь значительные изменения, содержимое вакуолярного аппарата продолжительное время остается неизменным. Волютин, образующий коацерваты с нейтральной красной и обычно быстро растворяющийся при различных поражениях клетки, в данном случае продолжает оставаться в виде красных гранул, лишь позднее обесцвечивающихся.

Еще более тонкие изменения обнаруживаются при флуоресцентном микроскопировании в синих лучах. Для этих исследований отмытые от среды суспензии клеток обрабатывались прижизненно флуорохромами акридином оранжевым, берберин-сульфатом и корифосфином. Рассмотрим кратко результаты, полученные с каждым из этих флуорохромов.

Акридин оранжевый в очень слабых растворах (1 : 100 000 — 1 : 200 000) вызывает у Endomyces Magnusii темнозеленую флуоресценцию протоплазмы и светлозеленую флуоресценцию ядер. Вакуоли, накапливающие значительные количества красителя, светятся огненно-красным. Самые ранние изменения, не обнаруживаемые еще при микроскопии в белом свете, проявляются в резком усилении свечения цитоплазмы и ядер. Протоплазма начинает флуоресцировать ярко зеленым, ядра — желтовато-зеленым. Это зависит от повышения адсорбционной способности протопласта. Аккумуляция клеткой акридина оранжевого в дальнейшем все возрастает и флуоресценция протоплазмы приобретает более интенсивножелтый цвет, затем она становится оранжевой и наконец — красной. Оранжевая и красная флуоресценция протоплазмы совпадает с ее тяжелым необратимым повреждением, желатинизацией и коагуляцией. Эти изменения в цвете флуоресценции, связанные с денатурацией белков протопласта, впервые наблюдал на растительных клетках Strugger [17]. Он считал, что любое повреждение клетки, приводящее к ее отмиранию, сопровождается изменением зеленого цвета флуоресценции адсорбированного акридина на красный. Мы, проверяя в свое время эти наблюдения, показали, что такое изменение цвета свечения происходит лишь при определенном типе дегенерации протопласта и не является обязательным спутником смерти клетки (Мейсель и Заварзина [6]). Тип денатурации белков протоплазмы под воздействием цетил-зефирола и является именно тем, который характерен для своеобразных некробиотических процессов, приводящих к особенно сильному связыванию акридина оранжевого с протопластом.

Флуорохром берберин-сульфат, проникая в живую клетку, накапливается в первую очередь на хондриосомах, придавая им интенсивную золотистожелтую флуоресценцию. Слабее флуоресцируют светложелтым ядра. Ранние изменения под влиянием цетил-зефирола проявляются в усилении свечения протоплазмы и ядер. Затем следуют агглютинация и зернистый распад хондриосом; с нарастанием этого процесса усиливается флуоресценция и ячеистое вспенивание протоплазмы. В конечной стадии исчезает избирательное свечение отдельных клеточных структур и общая флуоресценция протопласта постепенно бледнеет.

Флуорохром корифосфин дает яркую зеленую флуоресценцию протоплазмы, голубую — жировых включений, оранжевую — хондриосом и красную — преципитата в вакуолях. Благодаря избирательному свече-

нию жировых капелек отчетливо удается наблюдать липофанероз в протоплазме под влиянием цетил-зефирола. Хондриосомы разбухают и становятся каплевидными. Свечение протоплазмы принимает все более желтый оттенок.

Суммируя прижизненные изменения клеток под влиянием цетилзефирола, наблюдаемые при обычной и флуоресцентной микроскопии, можно несколько схематично представить следующим образом их последовательность.

1. Сначала увеличивается адсорбционная способность протопласта. Это особенно отчетливо заметно благодаря усилению накопления, флуорохромов в протоплазме и ядрах и указывает на физико-химические изменения белковой основы протоплазмы.

2. Затем наблюдаются изменения в строении и свойствах хондриосом. Последние вакуолизируются, часть их липопротеидов расщепляется с освобождением липоидов (липофанероз). Судя по отклонениям в окрашиваемости хондриосом, существенно меняется и нуклеопротеидный остов этих органоидов.

3. Изменения протоплазмы прогрессируют; она резко вакуолизируется и вместе с тем уплотняется, как бы застывает, желатинизируется. Липопротеиды протоплазмы также частично распадаются с появлением свободных жировых капелек.

4. Меняется агрегатное состояние нуклеопротеидов ядра; они желатинизируются и сильнее адсорбируют красители.

5. Протопласт подвергается прогрессирующим некробиотическим изменениям: мелкой ячеистой вакуолизации и мелкозернистой коагуляции. Он сжимается, контрагирует и отходит от клеточной оболочки. Хондриосомы распадаются и растворяются. Ядра приобретают грубую структурность. Эти изменения необратимы и ведут к отмиранию клетки. На этой стадии, а может быть и несколько раньше, начинается автолиз клетки, быстро прогрессирующий и приводящий к почти полному растворению протопласта (рис. 1, *в*). Следовательно, гибель и лизис клеток в результате воздействия четвертичных аммонийных соединений (катионного типа) происходят от разрушения клеточной структурной организации и в первую очередь липопротеидных и нуклеопротеидных структур. Разрушение структур усиливает гидролизирующую активность энзимов (Опарин [7, 8], Курсанов [2]), что приводит к автолизу протопласта.

Фиксированные на разных стадиях клеточных изменений препараты дают возможность после их обработки цитологическими методами еще более уточнить характер клеточной дегенерации. В клетках Endomyces Magnusii из контрольной культуры отчетливо выявляется хондриосомный аппарат, состоящий из нежных тонких нитей, равномерно распределенных в протоплазме; в округлых, оидиальных клетках хондриосомы имеют форму палочек. Ядра в нормальных клетках крупные, округлые, с отчетливо различимой кариосомой (рис. 2, *а*). Начальные стадии изменений (разведение цетил-зефирола 1 : 150 000, продолжительность воздействия 1 час) характеризуются ячеистым строением протоплазмы, разбуханием и склеиванием хондриосом. Несколько более высокая концентрация цетил-зефирола (1 : 100 000) вызывает дальнейшие процессы дегенерации протопласта и его структур. Вакуолизация протоплазмы значительно сильнее выражена. Разбухшие хондриосомы расслаиваются на более темноокрашенные и более светлые части; возможно, что эта картина отражает отщепление липоидов от нуклеопротеидов. Контуры хондриосом становятся нерезкими, что указывает на частичное растворение этих структур. Ядра также претерпевают резкие дегенеративные изменения типа пикноза и кариорексиса (рис. 2, *б*). Очень высокие концентрации антисептика (1 : 10 000) вызывают, как уже отмечалось, быстро наступающее сжатие клеток и отхождение протопласта от кле-

точной оболочки. Протоплазма плохо дифференцируется, она темная, комковатая. Хондриосомы в клетках либо вовсе не выявляются, либо находятся в состоянии мелкозернистого, пылевидного распада, либо от-

Рис. 2. Изменения ядерного и хондриосомного аппаратов клеток под влиянием цетил-зефирола (фиксация хром-формул-уксусной смесью, окраска по Гейденгайну)

а — клетки исходной культуры с нормальными ядрами и хондриосомами; *б* и *в* — изменения клеточных органоидов под влиянием разных концентраций цетил-зефорола

личаются нерезкими расплывчатыми контурами, характерными для растворяющихся структур. Ядра резко сморщены, мелкие, распадающиеся (рис. 2, *в*).

Функциональные изменения клеток

Как и следовало ожидать, цетил-зефирол, энергично разрушающий ответственные структуры клеток, особенно сильно поражает окислительные ферментативные системы. Необратимое угнетение дыхательной функции бактерий под влиянием детергентов было в свое время отмечено Baker с сотрудниками [10]. Наш модельный объект Endomyces Magnusii также реагировал на цетил-зефирол быстрым снижением величины поглощения кислорода. При концентрации 1 : 10 000 этот процесс подавляется полностью в течение 2 минут; через несколько минут прекращается дыхание клеток при концентрации детергента 1 : 40 000.

Даже при концентрации 1 : 100 000 поглощение кислорода суспензией культуры снижается примерно на 50% (табл. 1).

Таблица 1

Интенсивность поглощения кислорода культурой Endomyces Magnusii при воздействии различных концентраций цетил-зефирола

Концентрация цетил-зефирола	Поглощение O_2 в мм³ за 1 час 1 мг сухого вещества Q_{O_2}	Концентрация цетил-зефирола	Поглощение O_2 в мм³ за 1 час 1 мг сухого вещества Q_{O_2}
Контроль	69	1 : 100 000	28
1 : 500 000	68	1 : 40 000	0
1 : 150 000	58	1 : 30 000	0

Нами были обследованы некоторые системы окислительной ферментативной активности у культур Endomyces Magnusii как нормальных, так и обработанных растворами цетил-зефирола в различных концентрациях. Подробное изложение полученных данных явится предметом специального сообщения. Здесь мы коснемся лишь дегидразной активности и состояния цитохромной системы.

Активность глюкозо-дегидразы определялась по методу Тунберга по скорости обесцвечивания метиленовой синей. При этом выяснилось, что в то время как суспензия клеток Endomyces Magnusii в норме обесцвечивает краску через 12—15 минут, такая же суспензия, обработанная предварительно цетил-зефиролом (1 : 10 000), не обесцвечивает метиленовую синюю и через 48 часов. Обработка клеток раствором этого детергента в концентрации 1 : 80 000 резко задерживает обесцвечивание краски, наступающее только через 30—35 минут. Следовательно, цетил-зефирол понижает активность, а в более высоких концентрациях полностью подавляет деятельность дегидраз.

Цитохромная система Endomyces Magnusii исследовалась по методу Крисса с помощью микроспектроскопа. Из промытых и отпрессованных культур готовились столбики определенной высоты, просматривавшиеся в микроскоп, снабженный спектральным окуляром. Нормальные культуры нашего эндомицета обнаруживают при этом четыре полосы поглощения, идентифицированные нами как цитохромные полосы *a* (610—598 mμ), *b* (556—560 mμ), *c* (552—548 mμ) и *d* (528—520 mμ). Под влиянием цетил-зефирола отмечается исчезновение полосы *d*, слияние полос *b* и *c* и утрата резких границ у этих полос; наиболее устойчивой оказалась полоса поглощения *a*.

Если обследованные нами окислительные системы резко реагируют на цетил-зефирол, то зимазный комплекс, регулирующий спиртовое брожение, значительно более устойчив. Относительная устойчивость бродильной функции дрожжевых организмов по отношению к цетил-зефиролу была отмечена в свое время Логиновой [3].

При внесении детергента непосредственно в стаканчики Варбурга перед определением интенсивности поглощения кислорода суспензиями Endomyces Magnusii можно было отметить более или менее отчетливое действие лишь при концентрации цетил-зефирола не ниже, чем 1 : 20 000. Более значительные разведения не давали существенного угнетения (табл. 2).

Действие цетил-зефирола на брожение несколько усиливалось, если детергент приводился в соприкосновение с суспензиями за 1—2 часа до определения интенсивности брожения. Однако и в этом случае эффект получался значительно менее резкий по сравнению с реакцией окислительных систем (табл. 3).

Таблица 2

Интенсивность брожения Endomyces Magnusii в присутствии цетил-зефирола

Концентрация цетил-зефирола	Выделение CO_2 в мм³ за 1 час на 1 мг сухого вещества Q_{CO_2}
Контроль	41
1 : 150,000	40
1 : 80,000	39,5
1 : 20,000	26
1 : 10,000	20

Таблица 3

Интенсивность брожения Endomyces Magnusii после воздействия цетил-зефирола

Концентрация цетил-зефирола	Выделение CO_2 в мм³ за 1 час на 1 мг сухого вещества Q_{CO_2}
Контроль	58
1 : 100 000	35
1 : 40 000	22

Параллельно проведенные микроскопические исследования клеток эндомицета из этих суспензий показали, что они весьма отчетливо повреждены цетил-зефиролом. Процесс брожения, однако, угнетается явно непропорционально степени повреждения клеток. Эти наблюдения еще раз подчеркивают тот факт, что координированные окислительные процессы в клетках в большей мере зависят от состояния клеточной структурной организации, чем процессы, связанные с анаэробным расщеплением углеводов

Выводы

1. Четвертичное аммонийное соединение катионного типа цетил-зефирол оказывает на клетки дрожжевых и дрожжеподобных организмов такое же в общем действие, как и на бактериальные клетки. Вследствие этого дрожжевые организмы могут быть использованы как удобные модельные объекты для изучения закономерностей действия на микробную клетку веществ подобного типа.

2. В основе действия цетил-зефирола на микробную клетку лежит деструкция ряда ответственных клеточных структур и в первую очередь липопротеидных и нуклеопротеидных.

3. Цитоплазма и цитоплазматические органоиды — хондриосомы — быстро изменяются под влиянием цетил-зефирола. Эти изменения проявляются сначала в нарастании адсорбционной способности протопласта, затем в расщеплении липопротеидов с освобождением свободных липоидов (липофанероз). Следующий за этим лизис протопласта — вторичного происхождения; он зависит от усиления деятельности протеолитических ферментов клетки, возникающего после первичного повреждения клеточных структур.

4. Ядро также подвергается глубоким изменениям. Оно сначала разбухает, затем распадается и частично растворяется.

5. Одной из характерных особенностей действия цетил-зефирола на клетку является резко выраженное сжатие протопласта и отхождение его от клеточных оболочек, имитирующее плазмолиз. Это явление, однако, необратимо.

6. Цетил-зефирол резко угнетает дыхательную функцию клетки и в значительно меньшей степени бродильную.

Получено 8.VII.1948

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
и
Всесоюзный научно-исследовательский
химико-фармацевтический институт
им. С. Орджоникидзе
Москва

ЛИТЕРАТУРА

1. Браз Г. Синтез бактерицидных соединений ряда четвертичных аммонийных соединений. Протокол Учен. совета Всес. научно-иссл. химфарм. ин-та 4 авг. 1944.
2. Курсанов А. Обратимость действия ферментов в живой растительной клетке. Изд. АН СССР, 1940.
3. Логинова Л. Изыскание новых видов антисептиков для спиртового производства. Отчет Всес. ин-та спирт. пром., 1943.
4. Мейсель М. Перестройка протопласта дрожжевых организмов в процессе брожения. Микробиология, VIII, 381, 1939.
5. Мейсель М. и Заварзина Н. Функционально-морфологический анализ действия сульфонамидов на клетку. Рефераты работ АН СССР за 1945 г., Отд. биол. наук, стр. 139.
6. Мейсель М. и Заварзина Н. Флуоресцентно-микроскопические наблюдения над живыми клетками микроорганизмов. Микробиология, XVI, 394, 1947.
7. Опарин А. Действие ферментов в живой клетке. Успехи химии, **3**, 200, 1934.
8. Опарин А. Направленность действия ферментов в живой клетке. Тр. Моск. Дома ученых и Ин-та биох. АН СССР, вып. 4, 5, 1940.
9. Уманская В. Четвертичные аммонийные соединения как бактерицидные вещества. Протокол Учен. совета Всес. научно-иссл. химфарм. ин-та 4 авг. 1944.
10. Baker Z., Harrison R. and Miller B. The bactericidal action of synthetic detergents. J. Exp. Med., **74**, 611, 1941; Inhibition by phospholipids of the action of synthetic detergents on bacteria. J. Exp. Med., **74**, 621, 1941.
11. Brian P. Effect of *p*-amino-benzoic acid on the toxicity of *p*-amino-benzene-sulfonamide to the higher plants and fungi. Nature, **153**, 83, 1944.
12. Hotchkiss R. The nature of the bactericidal action of surface active agents. Ann. N. Y. Acad. Sci., **46**, art. 6, 479, 1946.
13. Huyck C. The effect of cetylpyridinium chloride on the bacterial growth in the oral cavity. J. Americ. Pharmac. Ass. Scient. Edit., **34**, 5, 1945.
14. Rahn O. and van Eseltine W. Quarternary ammonium compounds. Annual Rev. Microbiol., **1**, 173, 1947.
15. Sevag M. and Ross O. Studies on the mechanism of the inhibitory action of zephiran on yeast cells. J. Bact., **48**, 677, 1944.
16. Shelton R. van Campen M. and Nisonger L. Correlation of structure and germicidal activity of certain acyclic quarternary ammonium salts. Boston Meeting Americ. Chem. Soc., 1939.
17. Strugger S. Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über die Aufnahme und Speicherung der Acridinorange durch lebende und tote Pflanzenzellen. Jenaische Z. Naturwiss., **65**, 97, 1940.
18. Valko E. Surface active agents in biology and medicine. Ann. N. Y. Acad. Sciences, **46**, art. 6, 451, 1946.

ГЛЮТАТИОН В СУШЕНЫХ ДРОЖЖАХ

А. С. Нечаева

Получение сушеных пекарских дрожжей с высокой подъемной силой продолжает быть актуальным вопросом.

Попытки выяснить причины снижения подъемной силы при высушивании пекарских дрожжей уже были сделаны в отношении установления факта протеолитического распада в дрожжах во время высушивания [1].

Настоящая работа содержит дальнейшие исследования в этом направлении, касающиеся изменений в содержании главного активатора протеолиза в дрожжах — глютатиона.

С момента выделения глютатиона появилось много работ, посвященных рассмотрению весьма важных свойств этого трипептида для физиологии живой клетки.

Сульфгидрильная группа глютатиона SH обусловливает его способность обратимого самоокисления и подвижность активного водорода, выделяющегося при превращении формы SH в SS. Таким образом, окислительно-восстановительные процессы в дрожжевой клетке связаны с содержащимся в ней глютатионом.

В имеющихся работах о глютатионе в дрожжах [3, 4, 5, 6, 7, 11, 13] значение его в связи с подъемной силой у прессованных дрожжей устанавливается несколькими авторами [3, 4, 5], отмечающими глютатион как важный показатель качества дрожжей.

Большей частью в исследованиях о глютатионе в сушеных дрожжах [6, 12, 14] не затрагивается вопрос об их подъемной силе. В связи со снижением последней при высушивании в настоящей работе сделаны такого рода сопоставления при применении различных способов высушивания и разной подготовки дрожжей к сушке.

При проверке качества дрожжей применялись с небольшими изменениями методы, предусматриваемые стандартом на прессованные дрожжи и временными техническими условиями на сушеные дрожжи.

Для точности сопоставлений при определении подъемной силы сушеных дрожжей нами принималась во внимание влажность исходных прессованных дрожжей и сушеных дрожжей; навески их для определения подъемной силы отбирались сообразно сухому веществу.

Как показали наши ранее проведенные исследования, правильность взятой навески сушеных дрожжей имеет большое значение при суждении об их подъемной силе и сравнительной оценке дрожжей.

Из существующих методов определения глютатиона [8, 9, 10, 14] был взят в основу после сравнительных анализов метод Fujita и Numata, модифицированный сообразно с исследуемым материалом.

Этим методом определяются и другие иодредуцирующие вещества, но, благодаря присутствию их в дрожжах в ничтожном количестве, полученными значениями 0,001 *N* иодата (в миллилитрах) мы условно выражали восстановленный глютатион GSH с пересчетом его на 1 г сухого вещества дрожжей.

Для определения общей формы глютатиона производили восстановление его цинком. Количество окисленного глютатиона GSS рассчитывалось по разнице между общим и восстановленным глютатионом. Исследования проводились над пекарскими дрожжами Saccharomyces cerevisiae.

Испытан ряд методов высушивания, основанных на различных принципах отнятия воды от дрожжей: камерное высушивание током воздуха при разной температуре, высушивание распылением, вакуумный метод с обогревом, вакуум-высушивание с вымораживанием, высушивание при помощи адсорбентов и другие.

При высушивании в камерной сушилке исследовалось влияние температуры протекающего воздуха, степень измельчения дрожжей и высота слоя дрожжей на ситах.

Высушивание распылением интересно с технологической точки зрения непрерывностью процесса и тем, что подлежащие высушиванию дрожжи поступают в сушилку в виде дрожжевого молока; это исключает в производстве прессованных дрожжей стадию прессования и формовки.

Распыление дрожжевого молока до мельчайших пылинок (от 0,01 до 0,05 мм диаметром) создает огромную поверхность испарения, и высушивание горячим воздухом (100—105°) происходит в течение долей секунды.

Как показали образцы сушеных дрожжей, извлеченные из сушилки в разное время высушивания и из разных мест, сохранение активности высушенных распылением дрожжей возможно только при немедленном удалении их из сушильной камеры и прекращении воздействия высокой температуры. Сметанием дрожжей при помощи вращающихся лопаток со стенок сушильной камеры в открытый внизу люк пребывание дрожжей в сушилке сокращалось до 3 минут. При переходе к высушиванию дрожжей под вакуумом было прежде всего испытано влияние на дрожжи самого вакуума. Как товарные, так и маточные дрожжи при разрежении до 5 мм остаточного ртутного столба не изменили своей подъемной силы за 2,5 и 3 часа по сравнению с образцами таких же дрожжей, оставленных при обычном давлении и одинаковых остальных условиях.

Высушивание дрожжей в вакуум-сушилке с обогревом проводилось при различных температурах (30—50°) и различных перепадах температур; при этом испробовалось высушивание дрожжевой вермишели разного диаметра.

Большие успехи, достигнутые по высушиванию биологических препаратов вакуум-вымораживанием, заставили нас испробовать этот способ для пекарских дрожжей. Дрожжи сушились кусочками размером около 1—1,5 $см^3$ или измельчались в вермишель.

Внешний вид дрожжей, высушенных вымораживанием под вакуумом, чрезвычайно привлекателен: они совершенно белого цвета, очень легки, не изменяются в объеме, пористы и хрупки, приятны на вкус.

Высушивание пекарских дрожжей с коллоидальной кремневой кислотой было воспроизведено в следующих условиях: порошок силикагеля был добавлен к дрожжам в количество 3% по их весу, дрожжи, измельченные в тонкую вермишель, сушились на воздухе при 21° с разной продолжительностью от 21 до 72 часов.

Довольно подробно исследовалось высушивание дрожжей при помощи крахмала. Этот способ преследует постепенное отнятие влаги от дрожжевых клеток без повышения температуры или даже с понижением ее. Отнятие влаги от прессованных дрожжей производится крахмалом, который обладает большой гигроскопичностью; крахмал помещается вплотную с дрожжами. Чтобы отнятие влаги не замедлялось при все увеличивающемся увлажнении крахмала, создается двуступен-

чатость процесса: отнятие влаги от увлажненного крахмала крахмалом обезвоженным.

Этот способ был испробован на маленькой специально сконструированной барабанной сушилке. В качестве разделяющих перегородок были использованы мешочки из бельевой ткани, в которые помещались измельченные дрожжи и обычный крахмал в 3—4-кратном количестве.

Завязанные мешочки погружались в обезвоженный крахмал (в 2-кратном количестве). Высушивание проходило в наших условиях при температуре 20—24° при непрерывном вращении барабана. Для ускорения высушивания крахмал иногда меняли. Продолжительность процесса — 14—15 часов. Высушенные дрожжи отбивались и отсеивались от крахмала и проверялось их качество.

При всех способах высушивания наблюдается, хотя и в разной мере, замедление подъема теста, нарастание кислотности и увеличение содержания глютатиона в сушеных дрожжах (табл. 1).

Таблица 1

Качество дрожжей, высушенных различными способами

Способ высушивания	Прессованные дрожжи				Температура высушивания	Сушеные дрожжи			
	влажность в %	подъемная сила в мин.	кислотность	содержание GSH		влажность в %	подъемная сила в мин.	кислотность	содержание GSH
В лабораторной камерной сушилке со скоростью воздуха 0,8 м в секунду	73,3	48	—	0,70	28—32°	12,2	120	—	6,58
	73 0	55	—	0 71		12,1	116	—	5,80
	72,7	58	—	0 81		14,6	101	—	6,98
	72,4	49	—	0,76		12,8	138	—	6,10
На распылительной сушилке с немедленным удалением из камеры					около 100°	10,2	150	5,3	4,32
						10 2	190	5 2	5,62
						10,7	224	5,7	3,74
						8,3	106	—	4,00
						8,6	178	5,3	3,64
						10,0	138	5,3	3,82
Вакуум-вымораживанием	70,9	64	1,1	—	—13°	0,5	198	5,1	5,36
	72,0	48	—	0,75	от—10°	5,9	92	—	8 04
	73,4	55	—	1,24	до—20°	6,6	88	—	7,56
С кремневой кислотой	70,4	52	2,0	1,22	21°	11,8	89	3,3	5,32
С крахмалом	73,5	56	3,8	0,82	21°	11,8	80	4,6	6,60 *
	73,5	56	3,8	0,82		15,2	87	4,2	4,40**
	74.0	63	3,4	0,81	20—24°	10.5	78	4,0	4,72
	72,0	58	3,6	0,82		8,2	97	5,0	4,04

* Контроль: смешанные с крахмалом дрожжи высушены на воздухе
** Дрожжи высушены в сушилке без смены крахмала.

Количество мертвых клеток при высушивании увеличивается, например: первоначальное количество мертвых клеток, 1,1%, при высушивании вакуум-вымораживанием в течение 8 часов увеличилось до 9,1%, а через 9 часов мертвых клеток стало 16,4%.

В отдельных опытах прямого соответствия между подъемной силой сушеных дрожжей и содержанием глютатиона нет.

Так, по сравнению с другими способами высушивания подъемная сила дрожжей, высушенных крахмалом, замедлилась незначительно, а содержание восстановленного глютатиона в этих дрожжах близко

к найденному у высушенных распылением, имеющих ослабленную способность подъема теста.

В этих последних самая замедленная подъемная сила (224 минуты) у дрожжей с наименьшим содержанием GSH (3,74).

Чтобы проследить постепенность изменения качества дрожжей при их высушивании, особенно в отношении увеличения GSH, были проведены высушивания с периодическим отбором проб. Невозможность довести наблюдения в двухсменную работу до конца заставила затянуть опыт и досушивать дрожжи на воздухе, тем не менее картина изменений в дрожжах в процессе сушки очень характерна (табл. 2).

Таблица 2

Постепенность изменения качества дрожжей в процессе высушивания
(высушивание крахмалом)

Дрожжи	Опыт № 6				Опыт № 7			Опыт № 9			Опыт № 10		
	влажность в %	кислотность	подъемная сила в мин.	содержание GSH	влажность в %	подъемная сила в мин.	содержание GSH	влажность в %	подъемная сила в мин.	содержание GSH	влажность в %	подъемная сила в мин.	содержание GSH
Прессованные	71,6	2,6	51	1,20	69,6	52	0,95	74,5	62	2,35	74,5	62	2,31
Через 2 часа высушивания	32,5	—	—	3,04	29,9	—	1,46	38,9	—	3,14	31,5	—	2,46
Через 6 часов высушивания	22,6	—	—	5,28	20,8	55	2,96	25,7	87	4,10	22,5	82	3,04
После досушивания на воздухе	14,7	4,0	118	8,24	12,8	81	4,54	15,6	101	7,46	16,5	93	3,64

Увеличение содержания восстановленного глютатиона начинается уже в первые часы высушивания и растет с дальнейшей потерей влаги. При таком наблюдении над одними и теми же дрожжами выявляется некоторая связь между показателями, характеризующими дрожжи: замедление подъемной силы, повышение кислотности при высушивании сопровождается увеличением содержания восстановленного глютатиона.

Дальнейшее накопление материала позволило получить средние значения из большого количества данных, сгруппированных как по способам высушивания, так и по подъемной силе (табл. 3).

В результате обнаруживается некоторая особенность этой связи между подъемной силой и содержанием восстановленного глютатиона в сушеных дрожжах, которая затемняет картину при рассмотрении отдельных опытов. Количество GSH растет с ухудшением подъемной силы до какого-то предела, а затем начинает падать с дальнейшим снижением качества дрожжей.

Дрожжи, высушенные с крахмалом, по способности поднимать тесто заняли первое место (табл. 3, А) и у них почти наименьшее содержание восстановленного глютатиона.

Наибольшим количеством последнего обладают дрожжи, высушенные вакуум-вымораживанием, но подъемная сила их не самая худшая. При дальнейшем ухудшении подъемной силы в дрожжах с вакуум-высушиванием и высушиванием распылением количество восстановленного глютатиона снижается закономерно.

Так как самый способ сушки может оказать здесь то или другое влияние, в табл. 3 (Б) сгруппированы и выведены значения исключительно по подъемной силе, причем были исследованы и использованы сушеные дрожжи с заведомо плохой подъемной силой. В этой части

Таблица 3

Среднее качество дрожжей, высушенных разными способами

Число образцов	Способ высушивания	Подъемная сила в мин.	Влажность в %	Кислотность	Содержание GSH
		А			
11	С крахмалом	86	13,7	4,5	5,14
10	Камерный	111	12,3	6,3	6,10
10	Вакуум-вымораживанием .	113	11,4	3,9	7,85
4	Вакуум-высушивание с обогревом	145	8,5	6,3	5,20
7	Распылением	169	9,7	5,3	4,22
		Б			
3	Разными способами	60—70	12,9	3,3	3,74
5	» »	70—80	11,8	4,5	5,08
12	» »	80—100	11,3	4,3	5,67
20	» »	100—150	9,3	5,8	6,09
5	» »	150—200	9,0	8,4	4,89
6	» »	Выше 300	12,1	9,9	1,46
1	Распылением	Не подняли	18,9	5,3	0,84
1	»	теста за 7	14,1	7,5	0,52
1	»	часов	14,6	8,2	0,50
1			19,4	7,6	0,42

совершенно четко отмечается зависимость между подъемной силой сушеных дрожжей, нарастанием кислотности и GSH.

В дрожжах, совсем потерявших свою подъемную силу, содержание восстановленного глютатиона ничтожно.

Большей частью это относится к дрожжам с большой остаточной влажностью, высушенным на распылительной сушилке при воздействии высокой температуры. Следовательно, существует как бы предел увеличения содержания восстановленного глютатиона в сушеных дрожжах, после которого происходит снижение его.

Хорошей подъемной силе соответствуют количества GSH от 4 до 5,6 в первый период до перехода этих значений к снижению.

Получению доброкачественных сушеных дрожжей, несомненно, способствует высокое качество прессованных дрожжей, предназначенных к высушиванию. С этой целью проверены были различные способы подготовки дрожжей к высушиванию, усиливающие их активность и жизнедеятельность, а также испробованы были способы снижения количества восстановленной формы глютатиона.

Такая подготовка — это обработка дрожжей до высушивания мелассой, мальтозной патокой с солодовыми ростками и без них, сахаром; аэрация в воде и в воде с сахаром; обработка раствором сернокислого окисного железа и т. д. В зависимости от результатов обработки дрожжи затем сушились.

Обработка пресованных дрожжей мелассой была проведена как с инвертированным раствором, так и без инверсии. Она имела целью возбудить ферментативную деятельность дрожжей.

Плотность раствора мелассы применялась 14° Блг. в объеме 1 : 4, продолжительность обработки 1—2 часа при 27°.

Охлажденные водой после обработки дрожжи центрифугировались и исследовались. Часть их сушилась. Подобным же образом проводилась обработка мальтозной патокой, которая имела целью усиление активности дрожжевой мальтазы, необходимой в процессе хлебопечения.

Мальтозная патока взята была, как и меласса, в концентрации

14° Блг., причем часть раствора готовилась с отваром солодовых ростков, другая часть — без ростков.

За 2 часа выдержки дрожжей в растворе кислотность его увеличивалась и pH сдвигался в кислую сторону (с 6,1 до 4,3). Плотность раствора снижалась с 14° Блг. до 12,5° за счет накопления дрожжами питательных веществ, но не за счет размножения, так как почкование к этому времени было в начальной стадии.

Обработка дрожжей сахаром является способом быстрого обезвоживания дрожжей. Смешанные с 10% тонко измельченного сахара дрожжи после растирания разжижались благодаря плазмолизу. Влага отделялась фильтрованием с разрежением или центрифугированием. От отпрессовывания пришлось отказаться из-за сильного саморазогревания и утраты активности в дальнейшем.

Обработка дрожжей раствором сернокислой (закисной) соли железа испробована была с целью уменьшить активность глютатиона в дрожжах окислением сульфгидрильной группы его. Такая обработка давала улучшения в прежних наших работах [11], но при этом не было проверено количество глютатиона. Раствор сернокислого железа был взят в двух концентрациях.

Воздействие продолжалось 40 минут при 27°, а затем дрожжи центрифугировались. Обработка дрожжей аэрацией в виде водной взвеси или в сахарном растворе имела целью привести дрожжи в состояние полной зрелости и этим сделать их наиболее пригодными для высушивания.

Имеются и другие наблюдения [4], показывающие, что аэрация уменьшает накопление восстановленной формы глютатиона в прессованных дрожжах.

По окончании аэрации дрожжи центрифугировались и подсушивались до консистенции прессованных. Часть дрожжей использовали для анализа, другую часть сушили после измельчения в вермишель в лабораторной камерной сушилке током теплого воздуха (27—30°).

В результате перечисленных обработок прессованных дрожжей (таблицы 4 и 5), оказалось, что во многих случаях улучшается подъемная сила дрожжей и параллельно с этим уменьшается в них содер-

Таблица 4

Влияние различных обработок на качество дрожжей

№ п/п	Последовательные стадии обработки	Влажность в %	Кислотность	Подъемная сила в мин.	Содержание GSH
1	Исходные дрожжи	72,8	1,8	65	1,36
	Мелассой 14° Блг.	68,2	5,8	58	1,23
2	Исходные дрожжи	67,4	1,6	122	1,04
	Мальтозной патокой с ростками	62,7	5,0	82	0,92
	Мальтозной патокой без ростков	64,2	5,2	96	1,03
3	Прессованные дрожжи	68,9	—	60	1,29
	После плазмолиза сахаром и высушивания с крахмалом в течение 2 час	23,6	—	—	1,30
	То же в течение 5 час.	15,1	—	—	1,98
	То же после досушивания на воздухе	14,3	2,8	84	3,04
4	Исходные дрожжи	71,2	1,0	60	0,85
	После обработки раствором $FeSO_4$ 0,005%	72,0	0,6	56	0,61
	После обработки раствором $FeSO_4$ 0,002%	71,3	0,8	57	0,63

жание восстановленного глютатиона. Эту закономерность в изменении качества прессованных дрожжей подтверждают имеющиеся опубликованные данные [4].

Таблица 5

Влияние аэрации на дрожжи

№ опыта	Обработка дрожжей	До высушивания: соотношение дрожжей к жидкой фазе	До высушивания: длительность аэрации в час.	До высушивания: температура при аэрации	До высушивания: качество дрожжей: кислотность	влажность в %	подъемная сила в мин.	содержание GSH	После высушивания (при 27—30°): продолжительность высушивания	качество дрожжей: кислотность	влажность в %	подъемная сила в мин.	содержание GSH
I	Исходные	—	—	—	2,0	70,6	58	0,68	6	5 4	10,9	109	5,04
	Аэрация в воде	1:10	1,0	27	1,0	70,9	59	0,34	6	4,9	10,8	100	5,46
	Аэрация в сахарном растворе	1:10	1,5	27	1,6	68,9	56	0,48	6	4,3	10,8	75	5,38
II	Исходные	—	—	—	3,0	74,2	65	0,24	7,5	6,8	11,0	134	5,20
	Аэрация в воде	1:10	17	1—21	1,3	74,5	56	0,27	7,5	4,8	11,2	92	5,76
	Аэрация в сахарном растворе	1:10	17	1—2	2,2	73,0	60	0,25	7,5	4,1	11,2	95	5,40
III	Исходные	—	—	—	3,4	72.1	79	0 61	7	6,9	10,0	120	5,64
	Аэрация в воде	1:5	18	1—2	1,4	71,5	70	0,60	6	5.7	10,0	90	5,64
	Аэрация в сахарном растворе	1:5	18	1—2	2,1	70,6	68	0,58	4	4,9	10,1	90	5,66

Дрожжи, высушенные после примененной обработки, во всех случаях имеют лучшую подъемную силу, чем не подвергнутые обработке.

Что касается содержания в них восстановленной формы глютатионов, то оно держится в количествах, характерных для дрожжей хорошего качества, причем в сушеных дрожжах без обработки эти

Таблица 6

Содержание GSH в сушеных дрожжах при хранении при комнатной температуре

№ п/п	Способ высушивания	Содержание GSH в сле высушивания	Через 1 1/2 мес. содержание GSH	Через 3 месяца: подъемная сила в мин.	Через 3 месяца: содержание GSH	Через 7—8 месяцев: подъемная сила в мин.	Через 7—8 месяцев: содержание GSH
1	Камерное	5,76	4,14	—	—	—	—
2	»	5,40	4,80	—	—	—	—
3	»	5,04	—	—	—	Не подняли теста	1,68
4	»	5,64	—	—	—	То же	1,20
5	»	5,38	—	—	—	» »	0,41
6	Вакуум-вымораживанием	7,86	—	121	2,42	—	—
7	» »	9,24	—	98	4,10	—	—
8	Распылением	4,32	—	301	1,29	—	—
9	»	4,40	—	322	1,33	—	—
10	С крахмалом	5,31	—	Не подняли теста	0,84	—	—
11	» »	4,40	—	—	—	Не подняли теста	0,30

Таблица 7

Результаты хранения при разных условиях дрожжей, высушенных в камерной сушилке Омского завода

№ п/п	Условия хранения	При средней температуре	Через 17 дней хранения				Через 1 месяц хранения				Через 1 1/2 месяца хранения				Через 2 1/2 месяца хранения			
			влага в %	кислотность	подъемная сила в мин.	содержание GSH	влага в %	кислотность	подъемная сила в мин.	содержание GSH	влага в %	кислотность	подъемная сила в мин.	содержание GSH	влага	кислотность	подъемная сила в мин.	содержание GSH
1	В бутылке с ватной пробкой, залитой воском . . .	20	—	4,3	60	5,40	8,4	4,2	74	5,56	8,4	4,5	86	5,04	8,7	5,3	103	2,43
2	В пробирке с резиновой пробкой	—11—+7	8,6	4,0	67	5,92	8,4	3,8	70	5,54	8,4	4,1	73	4,96	8,9	—	91	2,36
3	То же	15—25	8,8	4,1	69	6,58	8,7	4,0	75	5,54	8,7	4,7	81	5,52	9,1	4,7	118	2,67
4	» »	30	8,3	4,0	63	5,60	8,4	4,2	81	5,72	8,4	4,4	90	5,04	8,7	—	171	1,99
5	» »	54	8,5	7,1	Не подняли теста	1,81	8,5	8,2	—	0,88	8,5	9,5	—	0,59	4,3	10,5	—	0,28
6	В склянке с обезвоженным крахмалом	20	7,9	4,4	65	5,26	7,6	4,3	84	6,02	7,6	5,0	87	5,34	8,0	6,0	119	2,59
	Среднее без № 5		8,2	4,2	65	5,75	8,3	4,1	77	5,67	8,3	4,5	83	5,18	8,7	5,3	120	2,41

количества несколько ниже. Возможно, что в этом случае идет уже снижение GSH.

Таким образом, намечаются пути получения сушеных дрожжей с удовлетворяющими нас показателями.

Не менее важным является вопрос сохранения качества сушеных дрожжей. Ранее сообщалось [2] об ухудшении подъемной силы сушеных дрожжей при хранении.

Как выяснилось путем анализа давно высушенных дрожжей, содержание восстановленного глютатиона в сушеных дрожжах при хранении снижается, причем вне зависимости от способа высушивания. Вместе с тем при хранении сушеных дрожжей наблюдается снижение восстановленной формы глютатиона (табл. 6).

Наименьшая стойкость сушеных дрожжей с влажностью выше 12%. Чтобы установить, в какой момент начинается снижение восстановленного глютатиона и как влияют на это различные условия хранения, были проведены в течение нескольких месяцев соответствующие наблюдения над высококачественными сушеными дрожжами Омского завода (табл. 7).

В первый месяц только в некоторых образцах еще продолжает увеличиваться содержание GSH, в остальных уже начинается его уменьшение, принимающее значительные размеры на 3-м месяце хранения. В это же время особенно ухудшается подъемная сила. Резкое падение качества сушеных дрожжей в образцах, хранившихся при 54°, которые не подняли теста при первой проверке через 2 недели; в них очень высока кислотность и значительно снизилось содержание GSH.

Лучшая подъемная сила была у сушеных дрожжей, хранившихся в леднике, несмотря на то, что температура в нем колебалась от —11° до +7°. Среднее, рассчитанное с исключением данных при высокой температуре (№ 5), подчеркивает ту же закономерность в изменении качества сушеных дрожжей.

Отсутствие глютатиона в сушеных, так называемых витаминных медицинских дрожжах, на что указывает Sabalitschka ([14], является, повидимому, следствием долгого хранения их или результатом высушивания при неблагоприятных условиях. Имеем ли мы здесь дело с окислением восстановленного глютатиона или с иным превращением его в сушеных дрожжах — требует выяснения.

Определения окисленной формы глютатиона в дрожжах с плохой подъемной силой показали (табл. 8) очень незначительные его количества, которые не подтверждают предположения о процессе окисления. Повидимому, здесь имеет место распад глютатиона в результате биохимических изменений в дрожжевой клетке.

Таблица 8

Восстановленный и окисленный глютатион в сушеных дрожжах

№ п/п	Способ высушивания	Срок хранения	Подъемная сила в мин.	Кислотность	Содержание глютатиона	
					восстановленного	окисленного
1	Распылением	2—3 дня	Не подняли теста	9,2	3,52	0,76
2	»	2—3 »	То же	8,2	0,50	0,48
3	Вакуум-вымораживанием . . .	2—3 »	270	5,5	1,60	0,08
4	Камерное высушивание	2 м-ца	188	—	3,42	0 02
5	» »	3 »	242	—	1,62	0,04
6	» »	1 ½ »	412	—	0,52	0,12

Выводы

1. Количество глютатиона в сушеных пекарских дрожжах является важным показателем их качества, так же как и в прессованных дрожжах.

2. Количество восстановленной формы глютатиона увеличивается в дрожжах постепенно в течение высушивания, но достигает разных значений, находящихся в связи с подъемной силой сушеных дрожжей, зависящей от способа высушивания.

3. Неблагоприятные условия высушивания, вызывающие сильное замедление подъемной силы, отражаются на количестве восстановленного глютатиона, которое сперва увеличивается, а затем начинает снижаться тем сильнее, чем больше потеря подъемной силы у дрожжей при высушивании.

4. Поддержание надлежащего содержания восстановленной формы глютатиона (до 5,5) в сушеных дрожжах возможно путем обработки дрожжей перед высушиванием, возбуждающей ферментативную деятельность дрожжей и вызывающей окислительные процессы.

5. При длительном хранении содержание восстановленного глютатиона уменьшается в полном соответствии с ослаблением подъемной силы вне зависимости от способа высушивания. Хранение сушеных дрожжей при низких температурах дает лучшие результаты в смысле сохранения их качества.

6. Уменьшение количества восстановленной формы глютатиона в сушеных дрожжах идет не за счет его окисления, а, повидимому, является следствием распада его в результате биохимических изменений, происходящих в дрожжевой клетке.

7. Дальнейшее изучение восстановленной формы глютатиона в прессованных и сушеных дрожжах позволит развить намеченные методы управления процессом высушивания дрожжей.

Центральная научно-исследовательская лаборатория бродильной промышленности
Москва

Получено 16.IX.1948

ЛИТЕРАТУРА

1. Нечаева А. С. Протеолитический распад при сушке дрожжей. Биохимия, 5, вып. 1, 1940.
2. Нечаева А. С. Качество сушеных пекарских дрожжей. Журн. Консультации по бродильной промышленности, вып. 18—19, 1940.
3. Проскуряков Н. И. Об определении и изменении глютатиона в прессованных дрожжах при различных условиях хранения. Хлебопекарная промышленность, ВНИИХ, № 1, 1940.
4. Смирнова А. Э. Зависимость между содержанием глютатиона и качеством дрожжей. Микробиология, X, вып. 5, стр. 542, 1941.
5. Щербак С. Е. О производственном значении определения глютатиона в прессованных дрожжах. Хлебопекарная промышленность, № 8, 1940.
6. Bolomey P. Glutathion et fermentation alcoolique. Ann. des Fermentations, V, N. 4 и N. 5, 1939.
7. Fink H. u. Just T. Zur Biochemie der Torula utilis. IV Mitt. Biochem. Z., 303, 3—4, 1939.
8. Fujita A. u. Numata I. Über die jodometrische Bestimmung des Glutathions in Geweben. Biochem. Z., 299. H. 3—4, 249, 262, 1938.
9. Fujita A. u. Numata I. Über die kolorimetrische Bestimmung des Glutathion. Biochem. Z., 300, H. 4, 246, 257, 264, 1939.
10. Hartner Fr. u. Schleiss E. Über die Bestimmung des Glutathions im biologischen Material. Microchemie, XX, H. 1, 163, 1936.
11. Mezzadroli G. et Vicentini V. Influence de quelques composés contenant le groupement sulfhydrilique (cysteine, cystine et glutathion) sur la multiplication cellulaire de Saccharomyces cerevisiae. Bull. Ass. Chemistes, 54, 929, 1937.
12. Ogava M. Аннотации в Ann. de Fermentations, No. 5, No. 7, 1939—1940.
13. Pirie N. W. The preparation of glutathion from yeast and liver. Biochem. J., XXIV, No. 1, 51, 1930.
14. Sabalitschka Th. Bestimmung des Glutathionsgehaltes medizinisch angewandter Trockenhefen. Microchemie, Festschrift, S. 387, 1936.

ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА ПОЧВЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ В РЕЗУЛЬТАТЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ УДОБРЕНИЙ

Е. Н. Мишустин и *В. Н. Прокошев*

Введение

Окультивирование почвы вообще и ее удобрение органическими и минеральными веществами, в частности, сильно сказываются на составе и активности почвенной микрофлоры. Отмеченное положение было подчеркнуто в многочисленных работах, проведенных как у нас, так и за границей (Мишустин [2, 6], Ваксман [8] и др.).

Исследователи, работавшие над интересующим нас вопросом, обычно устанавливали в удобрявшихся почвах прежде всего значительное изменение общего числа микробов. Используя методику Реми-Лениса или Ваксмана, удавалось обнаружить также под влиянием удобрений интенсификацию отдельных процессов. По сложившимся традициям чаще всего при этом выяснялись быстрота распада вносимых в почву белковых веществ (аммонификация) и энергия накопления в почве нитратов (нитрификация).

Не отрицая целесообразности использования в отдельных случаях метода микробиологических реакций, мы должны все же по поводу этих приемов исследования сделать несколько принципиальных замечаний. Прежде всего следует указать, что метод так называемых «микробиологических реакций» является по существу агрохимическим, а не микробиологическим приемом исследования. С его помощью устанавливается суммарно активность процесса, вызываемого совокупностью почвенных микроорганизмов, причем это делается приемами химического анализа. Возбудители же процесса как таковые от внимания исследователя ускользают.

Между тем нам известно, что обстановка окружающей среды резко сказывается на микробных ценозах, отдельные представители которых могут быть с успехом использованы для целей индикации текущего состояния почвы. К этому вопросу мы превлекали внимание в ряде статей (Мишустин [3, 5, 6]) и поэтому сколь-либо детально его здесь разбирать не будем. Отметим лишь, что, несмотря на значительное разнообразие имеющейся в почве микрофлоры, до сих пор в качестве индикаторных микробов используются лишь единичные представители этого мира живых существ. Их список по существу исчерпывается азотобактером и нитрификаторами. Азотобактер достаточно требователен к условиям внешней среды и вполне справедливо считается показателем высоких агрономических свойств почвы. Нитрификаторы суммируют итоги мобилизационной деятельности почвенной микрофлоры, и наличие зависимости между их развитием и урожайностью почвы представляется весьма естественным.

Мы пытаемся расширить список показательных микробов и связать их нахождение с определенными агрономическими свойствами почвы. С этой точки зрения представляют известный интерес результаты исследования почв Соликамской опытной станции, получавших в течение ряда лет однотипные удобрения. Опыты, заложенные на Соликам-

ской станции, позволили не только сделать оценку эффективности минеральных удобрений, но также в несколько утрированной обстановке установить их влияние на свойства почвы и состав почвенного микронаселения.

Поскольку в настоящей статье рассматриваются в основном вопросы микробиологического порядка, то урожайные данные и сведения агрономического характера приводятся как имеющие лишь вспомогательное значение.

Влияние длительного применения удобрений на плодородие и изменение агрономических свойств почвы

Для легких подзолистых песчаных и супесчаных почв Соликамской сельскохозяйственной опытной станции применение удобрений является решающим условием получения высоких урожаев.

Внесением навозного удобрения можно на таких почвах поддержать достаточно хорошие урожаи, однако для этого необходимо систематически вносить навоз в дозах, не соответствующих его накоплению в настоящее время в колхозах (по 20 т на 1 га ежегодно).

Хороший эффект получается от комбинирования навоза с минеральными удобрениями. На фоне навоза, как правило, азот и фосфор оказываются не менее (а чаще — более) эффективными, чем без навоза.

Действие калийных удобрений по навозу обычно проявляется лишь на культурах, требовательных к калию.

Весьма существенно то, что на почвах Соликамской станции минеральные удобрения в основном сказываются лишь на культуре, под которую они вносятся. На следующий сезон их действие не превышает 10% от эффективности в год их внесения, а на третий год замечается дальнейшее затухание их положительного влияния. Отсюда вытекает весьма важное следствие, заключающееся в том, что легкие почвы для поддержания на них урожайности нуждаются в систематическом, практически ежегодном, внесении удобрений.

Опыт, заложенный в 1935 г. на полях станции, проводился в севообороте, включавшем картофель, брюкву и пшеницу.

Была принята нижеследующая схема опыта: 1) без удобрения; 2) NP (сульфатаммоний и суперфосфат); 3) NPK (сульфатаммоний, суперфосфат и сильвинит).

В одной из серий опыт проводился без навозного фона, в другой — по навозу.

При втором повторении севооборота, в 1938 г., половина делянок в обеих только что отмеченных сериях была удобрена известью. Таким образом, окончательно получились четыре серии, позволявшие выявить действие минеральных удобрений в следующих вариантах опыта: 1) без навоза и извести; 2) по извести; 3) по навозу; 4) по навозу и извести.

Навозное удобрение давалось, как правило, под картофель и под брюкву по 30 т на 1 га или 60 т за время полного севооборота (за ротацию). Исключение составляли лишь годы, когда навоз вносился только один раз в три года под картофель.

Всего за годы опыта было внесено 230 т навоза на 1 га. Первый раз известкование было произведено на половине всех делянок в 1938 г., т. е. начиная со второй ротации севооборота. Известь вносилась в форме молотого известняка в количестве 4,8 т на 1 га, что было рассчитано на полную нейтрализацию гидролитической кислотности почвы.

Второй раз известь была дана в 1946 г. только на делянки с минеральными удобрениями эквивалентно физиологической кислотности аммония, внесенного за годы опыта. Минеральные удобрения ежегодно вносились под все культуры в следующем количестве:

под картофель и брюкву N и P_2O_5 по 90 кг, а K_2O — 120 кг на 1 га
под пшеницу » » » 45 » » 60 » » 1 »

За четырехкратное прохождение севооборота каждое поле при расчете на 1 га было удобрено N и P_2O_5 по 2 950 кг, а K_2O — по 3 600 кг.

Все минеральные удобрения вносились под картофель или корнеплоды весной при перепашке поля, а под пшеницу также весной, но под культивацию.

Для характеристики действия удобрений на урожай при систематическом их использовании мы приводим нижеследующие данные (табл. 1).

Таблица 1

Влияние удобрений на урожай сельскохозяйственных культур

(в центнерах на гектар)

Вариант опыта	Урожай яровой пшеницы при следующем повторении севооборота				Урожай картофеля при следующем повторении севооборота			
	1-ом	2-ом	3-ем	4-ом	1-ом	2-ом	3-ем	4-ом
Без удобрений	3,8	2,7	2,3	0,4	82,7	75,7	58,9	70,0
NP	3,1	1,9	0,2	0,0	149,4	104,3	37,2	21,9
NPK	7,2	1,4	0,4	0,0	174,8	114,7	31,1	22,3
Известь	—	5,4	4 5	1,0	—	75,7	62,8	73,0
Известь + NPK	—	11 3	6.4	2 9		152.5	136,8	128,0
Навоз	6,1	12,0	10,9	5,5	136,1	169 9	145,4	199.4
Навоз + NPK	7,6	17 1	11,4	2,9	211,1	262,9	214.1	256,4
Навоз+известь	—	14.9	13,8	6,9	—	178.4	156.6	195,6
Навоз+известь+NPK	—	21,7	20,5	9,7	—	273,9	246,6	327,9

Как видно, систематическое применение на легких почвах минеральных удобрений ведет со временем к значительному снижению урожаев пшеницы. Совершенно тождественная картина наблюдается как при внесении NP, так и NPK. Следовательно, вредный эффект не может быть объяснен влиянием калийных солей, которые за 4 севооборота были даны в значительном количестве (7,2 г на 1 кг почвы).

При использовании навоза пшеница давала достаточно устойчивые урожаи. По навозу хорошо действовали и минеральные удобрения. Однако уже с 3-го повторения севооборота как абсолютная, так и относительная прибавка от NPK упала, а в 4-й ротации наблюдалось уже явно депрессивное действие минеральных удобрений. К последнему сроку урожай пшеницы, впрочем, сильно уменьшился во всех вариантах опыта.

Известкование почвы само по себе давало положительный результат. При 2-м и 3-м повторении севооборота полное минеральное удобрение (NPK) по извести значительно увеличивало урожай пшеницы, но в конце опыта и здесь было установлено отрицательное действие минеральных удобрений.

В случае комбинации навоза с известью урожай пшеницы без минеральных удобрений поддерживался на уровне 12—14 ц, за исключением последнего повторения севооборота.

Минеральные удобрения по навозу и извести способствовали получению максимального урожая пшеницы в описываемом опыте, причем получаемая от них прибавка удерживалась на высоком уровне, без признаков какой-либо депрессии в течение 2-го и 3-го повторения севооборота. Позднее, однако, урожаи начали падать и здесь. Это показывает, что даже при интенсивном удобрении без использования в сево-

обороте трав невозможно получить устойчивые урожаи, и лишний раз подчеркивает основательность взглядов Вильямса, разработавшего учение о травопольной системе земледелия.

Почти аналогичные данные были получены и в опытах с картофелем, культурой, как известно, весьма отзывчивой на применение удобрений и менее чувствительной к кислотности почвы.

Очевидно, благодаря последнему свойству полный набор минеральных удобрений по извести и навозу не дает снижения урожайности картофеля и в последние годы опыта.

Отмеченная нами депрессия от систематического применения минеральных удобрений (в состав которых входил аммиачный азот) быстро и резко себя проявила благодаря специфическим свойствам легких подзолистых почв, имеющих малую буферность, ничтожную емкость поглощения и большую ненасыщенность основаниями. Очевидно, на других почвах подзолистой зоны аналогичное явление должно иметь место, но оно во времени будет проявляться значительно медленнее.

Почвы опытных делянок были подвергнуты агрохимическому анализу в 1945 г. Результаты обобщены в табл. 2.

Таблица 2

Влияние длительного применения удобрений на агрохимические свойства почвы

Вариант опыта	Водное pH	Обменная кислотность (по Соколову)	Al (по Соколову)	H в м-экв. на 100 г почвы	Сумма оснований в м-экв. на 100 г почвы	Насыщенность основаниями v в %	$\frac{NH_4}{Ca + Mg}$
Без удобрений . . .	5,5	0,022	1,1	2,86	1,90	39,9	0,52
NP	4,4	0,070	0,75	3,91	1,78	31,3	1,60
NPK	4,4	0,045	1,71	3,60	1,50	29,4	1,28
Известь	6,1	0,071	0,0	1,35	2,90	68,1	0,11
Известь + NPK . .	4,8	0,105	0,0	1,51	3,13	67,4	0,16
Навоз	5,9	1,015	0,29	2,65	3,00	53,0	0,17
Навоз + NPK . . .	5,8	1,015	1,57	4,24	2,20	34,1	0,61
Навоз + известь . .	6,1	0,075	0,0	1,68	4,40	72,3	0,07
Навоз + известь + NPK	5,9	0,066	0,0	1,02	4,55	70,0	0,13

Не входя в подробный анализ приведенных данных, можно отметить следующие основные тенденции в изменении агротехнических свойств почвы.

1. Внесение NP и PK резко увеличивает количество подвижного алюминия. Вследствие этого происходит изменение обменной кислотности почвы и понижается значение pH.

2. При использовании минеральных удобрений резко снижается насыщенность основаниями за счет вытеснения Ca и Mg. Количество поглощенного NH_4 по отношению к двухвалентным основаниям возрастает.

3. Внесение навозного удобрения, как и следовало ожидать, понижает кислотность и количество подвижного алюминия. Запас поглощенных оснований возрастает.

4. В известкованной почве подвижный алюминий исчезает, причем понижается гидролитическая кислотность и увеличивается количество поглощенного кальция.

5. Минеральные удобрения даже в сочетании с навозом и известью вызывают заметное изменение кислотности почвы. При их внесении отмечается увеличение отношения поглощенного аммония к поглощенным Ca и Mg.

Влияние удобрений почвы на состав ее микрофлоры

Микробиологический анализ почв Соликамской опытной станции был произведен в 1946 г.

При выяснении воздействия разных удобрений на микрофлору почвы был взят ряд показателей, которые, по нашему мнению, могли дать наиболее яркое представление о характере происходящих сдвигов.

Следует отметить, что все анализируемые почвы находились под посевом одного и того же растения (пшеницы) и подвергались одинаковой обработке. Почва на межах была покрыта травянистой растительностью.

Прежде всего было установлено изменение числа бактерий, актиномицетов и плесневых грибов. Следует указать, что бактерии учитывались посевом на МПА, актиномицеты — на крахмало-аммиачном агаре и плесневые грибы — на сусловом агаре.

Результаты, полученные при анализе, произведенном три раза за вегетационный период, сведены в табл. 3.

Таблица 3

Число микроорганизмов в различно удобренных почвах Соликамской опытной станции (в тыс. на 1 г почвы)

	Вариант опыта	Общее количество микроорганизмов			Бактерии			Актиномицеты			Плесневые грибы		
		17/V	10/VIII	30/IX	17/V	10/VIII	30/IX	17/V	10/VIII	30/IX	17/V	10/VIII	30/IX
1	Без удобрений	1 180	538	423	470	350	365	700	180	47	10	8	11
2	NP	367	—	198	164	—	180	180	—	7	23	—	11
3	NPK	417	324	188	145	160	160	250	150	14	22	14	14
4	Известь	1 730	640	505	740	370	405	980	260	90	10	10	10
5	» + NPK	711	507	372	257	260	295	430	230	55	24	17	22
6	Навоз	2 550	1 136	720	830	610	605	1 700	510	93	20	16	22
7	» + NPK	908	922	581	370	450	502	510	450	55	28	22	24
8	» + известь	1 983	1 397	763	760	530	560	1 200	850	180	23	17	23
9	» + » + NPK	1 101	1 205	684	366	540	570	700	640	92	35	25	22
0	Межа	909	462	198	300	190	180	600	260	7	9	12	11
1	» (более бедный фон)	791	580	—	264	210	—	410	360	—	17	10	—

Примечание. Общее число микроорганизмов вычислено как сумма бактерий, грибов и актиномицетов.

Как показывают цифры, общая обсемененность почвы микроорганизмами довольно сильно меняется в течение вегетационного периода. К осени почва становится более бедной микроорганизмами. Можно заметить также, что число бактерий и плесеней вариирует относительно мало и имеющиеся сезонные изменения в общем числе почвенного микронаселения объясняются существенными колебаниями в количестве обнаруживаемых актиномицетов.

Знакомство с действием на микрофлору разных удобрений позволяет сделать следующие заключения.

1. Длительное внесение минеральных удобрений резко уменьшает в почве количество сапрофитных бактерий и актиномицетов. Эти группы микробов оказываются значительно более чувствительными к изменению обменной кислотности почвы и значению pH, чем плесени, число которых иногда даже возрастает в удобренных туками почвах.

Отрицательное действие минеральных удобрений на бактерий и актиномицеты проявляется даже по фону извести и навоза, которые несколько снижают размер отмеченной депрессии.

2. Известкование заметно стимулирует развитие бактериального микронаселения и актиномицетов. В удобренных известью почвах число грибов заметно не изменяется.

3. Навозное удобрение, а также навоз с известью благоприятно действуют на развитие всех иследованных групп микронаселения почвы.

Следует указать, что сама по себе распашка почвы, даже без внесения каких-либо удобрительных веществ, вполне заметно сказывается на обогащении пахотного слоя микроорганизмами, особенно бактериями и актиномицетами. Этот вывод можно сделать, сопоставив анализы почв межи и неудобренной культурной почвы.

Отмеченные нами положения о воздействии удобрений на почвенную микрофлору более рельефно отражаются при объединении ряда почв в группы, более или менее сходные друг с другом по характеру полученного удобрения. Подобный перерасчет сделан в табл. 4.

Таблица 4

Среднее количество отдельных групп микроорганизмов в различно удобренных почвах (в тыс. на 1 г почвы)

Характер воздействия на почву	Общее количество микроорганизмов			Бактерии			Актиномицеты			Грибы		
	17/V	10/VIII	30/IX	17/V	10/VIII	30/IX	17/V	10/VIII	30/IX	17/V	10/VIII	30/IX
Контроль	1 180	538	423	470	350	365	700	180	47,5	10	23	23
Удобрено навозом или навозом с известью (№№ 6, 8, 1)	2 266	1 266	740	795	570	582,5	1 450	680	136,5	21	16	22
Удобрено минеральными удобрениями (№№ 2, 3)	499	415	253	189	210	212	287	190	25	23	15	16
Удобрено минеральными удобрениями и навозом (№№ 5, 7, 9)	1 005	1 064	632	368	495	536	605	545	73	32	23	23

Примечание. Нумерация делянок взята из табл. 3.

Подводя некоторые итоги, можно сказать, что удобрения сказываются на изменении бактериального населения почвы и актиномицетах примерно так же, как и на сельскохозяйственных культурах.

Однако отмеченные микроорганизмы более чувствительны, даже по сравнению с пшеницей, к кислотности среды и поэтому угнетающее воздействие на них минеральных удобрений не уменьшается после одновременного удобрения почвы навозом и известью.

Не случайным нам представляется увеличение во всех удобренных почвах среди бактерий числа бациллярных форм. Особенно резко это сказывается в почвах, получавших минеральное удобрение, где, несмотря на депрессию общего числа бактерий, спороносные формы численно увеличиваются.

У нас сложилось вполне определенное мнение, что спороносные бактерии завершают процесс минерализации органического вещества в почве. Поэтому относительное обогащение почвы этой группой микробов показывает на обеднение почвы легкомобильными фракциями органических соединений.

Из существующей литературы нам известно, что внесение минеральных удобрений усиливает продукцию CO_2 почвой. Это происходит, конечно, за счет интенсификации распада органического вещества почвы. Поэтому нам кажется неудивительным, что удобрявшиеся минеральными туками почвы относительно обогатились спороносными бактериями.

Увеличение числа бациллярных форм в делянках, удобрявшихся навозом, может быть отчасти объяснено и другой причиной. Навоз сам по себе чрезвычайно богат спорообразующими бактериями, и при внесении больших его масс в почву последняя значительно загрязняется отмеченными микроорганизмами. На нескольких примерах мы покажем ниже, что это объяснение является весьма правдоподобным.

Подводя итог наблюдениям, сделанным со спороносной микрофлорой почвы, мы должны сделать заключение, что она в ряде случаев может быть использована для установления хода процессов минерализации органического вещества почвы.

Заслуживает быть отмеченным изменение видового состава спороносных бактерий под влиянием удобрений (табл. 6). Как видно, группа Bac. mesentericus в неудобренной подзолистой почве представлена крайне слабо. Лишь удобрение навозом вызывает значительное увеличение числа зародышей данных микроорганизмов в почве. Это вполне понятно, так как навоз весьма богат Bac. mesentericus и при его внесении в почву почва чисто механически загрязняется отмеченной бактерией.

Таблица 5

Спорообразующие бактерии в различно удобренных почвах

Удобрение, внесенное в почву	Количество бациллярных форм в тыс. на 1 г почвы			% спороносных форм по отнош. к бактериальному населению		
	17/V	10/VIII	30/IX	17/V	10/VIII	30/IX
Контроль	79	155	114	16,9	44,3	31,2
Удобрение навозом или навозом с известью	339,5	404,5	224,5	42,6	71,4	38,5
Удобрено минеральными удобрениями	116,0	195,5	92,3	64,6	93,9	44,2
Удобрено минеральными удобрениями и навозом	171,0	419,5	227,5	44,6	85,5	42,5

Примечание. Почвы сгруппированы так же, как в табл. 4.

Таблица 6

Наличие некоторых спорообразующих бактерий в различно удобренных почвах (в тыс. на 1 г почвы)

№ п/п.	Удобрение, внесенное в почву	Группа Bac. mesentericus			Группа Bac. mycoides			Группа Bac. megatherium		
		17/V	10/VIII	30/IX	17/V	10/VIII	30/X	17/V	10/VIII	30/IX
1	Без удобрений	2,5	1,0	2,0	10,1	5,2	5,0	15,0	9,0	2,0
2	NP	1,0	—	2,0	2,5	—	5,0	13,0	—	19,0
3	NPK	2,0	1,0	1,0	4,6	2,5	2,0	15,0	18,2	15,0
4	Известь	3,0	1,0	1,0	9,0	4,0	6,0	25,0	11,1	10,0
5	Известь + NPK	4,0	1,0	1,0	4,9	3,3	3,0	22,0	18,8	22,0
6	Навоз	15 0	13,8	18,0	2,7	2,1	5,0	20,0	22,1	23,0
7	Навоз + NPK	24,0	33,1	29,0	4,1	2,3	3,0	21,0	12,3	22,0
8	Навоз + известь	20,0	26,0	35,0	2,7	2,2	10,0	20,0	22,2	13,0
9	Навоз + известь + NPK	28,0	37,1	—	5,2	1,5	—	14,0	14,0	—

Мы полагаем, что по богатству подзолистой зоны Bac. mesentericus можно довольно легко устанавливать факт и степень унавоженности почвы.

Не случайным является некоторое уменьшение числа зародышей Bac. mycoides во всех удобренных почвах. Эта бактерия, как установ-

лено нами, связана с минерализацией относительно мобильных органических соединений. Как мы уже отмечали, под влиянием минеральных удобрений почва обедняется фракцией легкоподвижных органических веществ. Это приводит к некоторому уменьшению в почве числа зародышей Bac. mycoides.

На унавоженных фонах число зародышей Bac. megatherium имеет тенденцию к возрастанию.

Таким образом, как мы видим, изучение динамики видового состава бактерий дает значительно больше для понимания сущности происходящих в почве процессов, чем установление каких-либо суммарных показателей. Работа в данном направлении, однако, только что начата и ее нужно значительно углубить.

Переходим к последней группе спороносных бактерий — термофилам. В ранее опубликованных исследованиях (Мишустин [5]) нами было показано, что термофильные бактерии не свойственны целинным почвам как южных, так и северных широт. Они обычно размножаются в субстратах, подвергающихся самонагреванию, в том числе в навозе и компостах. С этими удобрениями термофильные микроорганизмы попадают в почву, где и сохраняются в пассивном состоянии многие годы. Термофильные микроорганизмы, как и Bac. mesentericus, отражают, таким образом, унавоженность и могут быть использованы в случае нужды как специфические индикаторы.

Как видно из данных табл. 7, наша точка зрения подтверждается и в данном случае. Почвы, не удобрявшиеся навозом, крайне бедны термофилами, унавоженные же делянки содержат значительное число этих микроорганизмов.

Колебания, имеющиеся в количестве термофилов в отдельных сроках анализа, зависят от неравномерного (гнездового) распределения их в почве, что препятствует взятию идеальной средней пробы. Ряд существенных соображений заставляет полагать, что термофилы в почвах сколь-либо энергично не размножаются. В частности, например, при наличии подобной возможности делянки, бедные термофилами, со временем обогатились бы ими, чего на самом деле не наблюдается.

Таблица 7

Термофильные микроорганизмы в различно удобренных почвах

(в единицах на 1 г)

№ п/п.	Удобрение, внесенное в почву	Сроки учета		
		17/V	10/VIII	30/IX
1	Без удобрений	70	100	100
2	NP	400	100	100
3	NPK	100	100	100
4	Известь	280	100	100
5	Известь + NPK	90	100	100
6	Навоз	11 860	12 600	15 300
7	Навоз + NPK	22 600	71 000	12 100
8	Навоз + известь	14 560	13 305	21 400
9	Навоз + известь + NPK	20 800	72 100	10 300

После знакомства с состоянием аммонифицирующих микроорганизмов посмотрим, как изменяется под влиянием различных удобрений число и активность нитрификаторов.

В изученных нами образцах был учтен титр (количество) нитрифицирующих бактерий в 1 г почвы и была определена нитрифицирующая способность по широко известному методу Ваксмана. В последнем

случае почвы, увлажненные до 60% от полной влагоемкости, компостировались при 28—30° в течение 15 суток, после чего определялось количество накопившихся в них нитратов.

Полученные при работе материалы приводятся в таблицах 8 и 9. Как видно, не удобрявшаяся почва Соликамской станции весьма бедна нитрификаторами, титр которых едва достигает 10. В полном соответствии с этим данная почва за 15 дней практически не накопляет нитратов за счет присущих ей соединений.

Минеральные удобрения, не изменяя и без того низкого титра нитрификаторов, вместе с тем снижают их активность.

Известкование, усредняя реакцию среды, увеличивает число нитрифицирующих бактерий, но вследствие бедности почвы подвижными формами азота лишь добавление в опыте сульфата аммония позволяет им проявить большую активность.

По навозному фону везде отмечалось весьма заметное нарастание титра нитрификаторов и повышение нитрификационной способности почвы. Лишь одновременное длительное удобрение NPK депрессировало нитрификационный процесс.

В литературе существуют указания о том, что нитрификаторы весьма чувствительны к свободным солям алюминия (Петербургский [7]). Поэтому нам становится понятным относительно угнетенное состояние нитрификаторов в делянке, удобренной навозом и минеральными солями, почва которой сильно обогащается алюминием. Этим, конечно, объясняется депрессивное состояние нитрификаторов и в почвах, получавших лишь минеральные удобрения.

Если мы сопоставим реакцию на условия среды нитрификаторов с реакцией сельскохозяйственных растений, то нетрудно сделать заключение, что она приближается к реакции, обнаруживаемой у пшеницы.

Таблица 8

Изменение титра нитрифицирующих бактерий под влиянием различных удобрений

№ п/п.	Удобрение, внесенное в почву	Сроки учета		
		17/V	10/VIII	30/IX
1	Без удобрений	10	< 10	10
2	NP	10	10	10
3	NPK	< 10	10	10
4	Известь	100	100	100
5	Известь + NPK	100	100	100
6	Навоз	1 000	1 000	1 000
7	Навоз + NPK	100	100	100
8	Навоз + известь	1 000	1 000	1 000
9	Навоз + известь + NPK	1 000	1 000	100

Примечание. Цифры показывают разведение почвы, в которой обнаруживаются нитрификаторы.

Предпоследняя группа, на которой мы остановим внимание, будет — целлюлозоразрушающие микроорганизмы. Нами было уже раньше подмечено (Мишустин [5]), что видовой состав данной физиологической группы довольно сильно изменяется при агрохимическом воздействии на почву. Нижеприводимые данные (табл. 10) вполне подтверждают наше мнение о ценных индикаторных свойствах целлюлозоразлагающих микроорганизмов. Приводимые материалы были получены методом Виноградского.

Таблица 9

Нитрифицирующая способность различно удобрявшихся почв
(по Ваксману)

№ п/п.	Удобрение, внесенное в почву	NO_3 в мг на 100 г почвы			
		до компостирования	после компостирования		
			без удобрений	$(NH_4)_2SO_4$	$(NH_4)_2SO_4$ и $CaCO_3$
1	Без удобрений	12,5	15,0	5,0	15,0
2	NP	—	—	—	—
3	NPK	7,5	7,5	6,25	5,0
4	Известь	10.0	10.0	12,5	12,5
5	Известь + NPK	8,0	30,0	10,0	20,0
6	Навоз	40,0	100,0	77,5	100,0
7	Навоз + NPK	16,0	22,5	12,5	22 5
8	Навоз + известь	50,0	100,0	82,5	150,0
9	Навоз + известь + NPK	40,0	110,0	100,0	225,0

Таблица 10

Влияние удобрений на состав целлюлозоразрушающих бактерий почвы
(процент комочков почвы, давших обрастание теми или иными микроорганизмами)

№ п/п.	Удобрение, внесенное в почву	Cytophaga			Myxococcus и Polyangium			Миксобактерии без плодовых тел			Вибрионы			Плесени типа Dematium			Плесени		
		17/V	10/VIII	30/IX	17/V	10/VIII	30/IX	17/V	10/VIII	30/IX	17/V	10/VIII	30/IX	17/V	10/VIII	30/IX	17/V	10/VIII	30/IX
1	Без удобрения	0	0	0	0	0	7	0	0	6	0	0	0	25	73	60	25	28	40
2	NP	4	—	0	30	—	6	0	—	0	4	—	0	20	—	0	56	—	100
3	NPK	4	0	0	0	0	0	25	20	6	4	0	2	16	0	6	34	75	94
4	Известь	16	0	6	0	0	0	32	46	9	15	0	0	0	20	20	20	48	80
5	Известь + NPK	8	0	0	0	0	0	8	46	6	4	0	0	0	0	6	20	34	94
6	Навоз	100	30	51	16	60	0	0	0	24	0	0	0	0	0	9	0	7	0
7	Навоз + NPK	100	0	24	0	0	0	0	40	0	0	0	0	12	0	20	52	56	20
8	Навоз + известь	100	86	100	8	20	0	0	0	0	8	0	0	0	0	6	0	0	0
9	Навоз + известь + NPK	100	27	30	0	46	40	0	20	8	4	0	0	12	0	0	8	0	0

Примечание. Так как в некоторых случаях обрастали не все комочки почвы, а в других около одного комочка вырастало несколько различных микробов, то сумма всех обрастаний может быть меньше или больше 100.

Нетрудно установить, что почва, не получавшая удобрений, содержит преимущественно грибную флору, разлагающую клетчатку, причем в ней преобладают виды, близкие к Dematium. Внесение минеральных удобрений заметно стимулирует рост ряда плесеней, особенно дающих пикниды (преимущественно Chaetomium). Dematium угнетается, но зато отмечается усиление развития разнообразных миксобактерий. Иногда начинает попадаться не обнаруживаемая в контроле Cytophaga. Известкование еще более усиливает отмеченную нами перегруппировку микроорганизмов.

Навоз один и в комбинации с минеральными удобрениями вызывает интенсивное развитие Cytophaga. Плесени при этом сильнейшим обра-

зом депрессируются, особенно Dematium. Некоторое исключение составляет лишь делянка с навозом и NPK, в почве которой по вполне понятным причинам остается довольно много грибов.

Принципиальная сторона сдвигов, наблюдаемых в составе целлюлозоразрушающих под влиянием удобрений, нами была разобрана в уже опубликованных работах. Отметим лишь, что здесь основное значение имеют, очевидно, разные требования микроорганизмов к формам и дозам азотного питания. Не без влияния, конечно, остается и реакция среды.

Отметим, наконец, поведение азотобактера в изученных нами почвах. Этот микроорганизм в течение вегетационного периода отсутствовал во всех делянках. Он не был даже обнаружен в почве, удобренной навозом и известью. Мы сделали попытку искусственно заразить различно удобрявшиеся почвы Соликамской станции культурой азотобактера с одновременным внесением энергетического материала. Через 1—1½ месяца микроб исчез во всех почвах. Правда, его вымирание в известкованных делянках проходило в более растянутые сроки.

Сделанные наблюдения указывают, что азотобактер нуждается не только в определенном питательном фоне и реагирует не только на реакцию среды. Своим появлением он отражает еще какие-то пока неизвестные нам моменты.

Делая общее заключение, мы должны отметить, что материал, приведенный в настоящей статье, показывает возможность уже в настоящее время использования ряда микроорганизмов для диагностики сущности изменений, имеющих место в почве под влиянием тех или иных хозяйственных воздействий.

В выполнении микробиологических анализов настоящей работы деятельное участие принимала В. А. Мирзоева.

Выводы

1. Длительное применение минеральных удобрений в севообороте без трав сильно увеличивает в почве запас подвижного алюминия и понижает значение pH. Отмечается также резкое снижение насыщенности почв основаниями. Урожаи сельскохозяйственных культур падают.

В составе микрофлоры обнаруживаются при этом следующие сдвиги. Общая обсемененность почвы микрофлорой значительно уменьшается за счет депрессии неспороносных бактерий и актиномицетов. Относительное и абсолютное число бациллярных форм возрастает точно так же, как и число грибов.

Увеличение общего числа спорообразующих бактерий не исключает, однако, заметного уменьшения некоторых их форм, как, например, Bac. mycoides.

Число нитрификаторов и нитрификационная способность почвы уменьшаются. В составе целлюлозоразрушающих микроорганизмов отмечается заметное нарастание числа пикнидиальных грибов и некоторых миксобактерий.

2. Унавоживание почвы резко увеличивает энергию микробиологических процессов в почве и повышает ее урожайность. Это связывается, конечно, с благоприятным воздействием навоза на агрохимические показатели почвы и ее обогащением питательными веществами.

В унавоженных почвах нарастает количество бактерий, актиномицетов и грибов. Возрастает нитрификационная способность почвы.

Специфическим при унавоживании изменением микрофлоры является увеличение числа зародышей Bac. mesentericus и термофильных бактерий. Лишь при внесении навоза в больших количествах появляется Cytophaga.

3. Известкование почвы несколько сглаживает неблагоприятное воздействие минеральных удобрений на почву. Еще более эффективным оказывается совместное применение минеральных удобрений с навозом и известью. Однако без использования трав в севообороте наиболее благоприятное сочетание удобрений не обеспечивает высокого и устойчивого урожая сельскохозяйственных культур.

4. В легких почвах при создании весьма благоприятных условий не размножается азотобактер. Это заставляет более критично расценивать показательные свойства данного микроба.

5. Проведенные исследования позволили выявить и проверить индикаторные свойства ряда сапрофитных микробов почвы.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР и
Соликамская опытная станция

Получено 6.I.1948

ЛИТЕРАТУРА

1. Вильямс В. Р. Почвоведение с основами земледелия. Сельхозгиз, 1947.
2. Мишустин Е. Н. и Соколов В. А. Урожай почвы и связь ее с энергией микробиологических процессов. Научно-агрономический журнал, № 1, 38, 1926.
3. Мишустин Е. Н. Миксобактерии, разлагающие клетчатку. Микробиология, VII (4), 427, 1938.
4. Мишустин Е. Н. и Тимофеева А. Г. Смена микрофлоры при процессе разложения органических остатков в связи с развитием в почве Bac. mycoides. Микробиология, XII (6), 272, 1944.
5. Мишустин Е. Н. и Васильева О. И. Термофильные микроорганизмы почвы и причины, вызывающие их распространение. Микробиология, XIV (4), 237, 1945.
6. Мишустин Е. Н. Микробиологическая характеристика состояния почвы. Советская агрономия, № 10, 61, 1946.
7. Петербургский А. В. К вопросу о денитрификации в кислых почвах. Почвоведение, № 1, 31, 1946.
8. Waksman S. Principles of soil microbiology, 1927.

УЧАСТИЕ ЦЕЛЛЮЛОЗНЫХ МИКСОБАКТЕРИЙ В ПРОЦЕССЕ ГУМИФИКАЦИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОСТАТКОВ

М. М. Кононова и *И. В. Александрова*

I. О биохимизме процесса разложения целлюлозы миксобактериями

Гумификация растительных и животных остатков является сложным процессом, представляющим единство взаимнопротивоположных явлений: 1) разложения тканей органических остатков с образованием более простых органических соединений и продуктов полной минерализации; 2) синтеза новых своеобразной природы высокомолекулярных веществ, так называемых гумусовых веществ.

Понимание этого процесса возможно лишь при условии изучения отдельных составляющих его явлений в их движении (смене), взаимной связи и обусловленности друг с другом. С точки зрения этого основного принципа марксистского диалектического метода мышления, результаты многих исследований в области изучения почвенного гумуса не всегда могут быть приняты в той форме, в какой они излагаются различными авторами. Так, один из важнейших вопросов этой проблемы, касающийся роли тех или иных компонентов растительных и животных тканей в образовании гумусовых веществ, может иметь разное решение в зависимости от того, изучается ли гумификация компонентов (белков, углеводов, лигнинов) изолированно или же в сочетании с другими компонентами в системе растительного организма, подвергающегося гумификации.

С этой точки зрения вопрос об участии целлюлозы в образовании гумусовых веществ представляет большой интерес. Считается, что целлюлоза не может являться источником гумусовых веществ, так как она разлагается многими микроорганизмами до низкомолекулярных органических соединений и до продуктов полной минерализации. Этот вывод вытекает преимущественно из опытов по разложению препаратов целлюлозы чистыми культурами микроорганизмов. Однако вопрос может иметь иное решение в том случае, если целлюлоза разлагается в системе тканей растительного организма, где продукты разложения целлюлозы и продукты ресинтеза бактерий взаимодействуют с продуктами распада и продуктами ресинтеза, образующимися при разложении других компонентов тканей.

Высказывая эти соображения, мы ни в каком случае не отрицаем целесообразности изучения отдельных явлений (например, в приводимом нами примере — изучения разложения целлюлозы чистыми культурами бактерий), что представляет собой необходимый этап исследования, но при непременном условии — рассмотрении этого явления в неразрывной связи с цепью других явлений, последовательно сменяющих в процессе гумификации друг друга (последовательное разложение компонентов тканей, последовательная смена микрофлоры, новообразование гумусовых веществ и т. д.).

В соответствии с высказанными соображениями мы проводили исследования по гумификации растительных остатков.

Настоящая работа представляет собой раздел этих исследований, посвященный выяснению роли целлюлозных миксобактерий в гумусообразовании.

Результаты исследований изложены в двух сообщениях; в первом сообщении приведены материалы по изучению биохимизма процесса разложения целлюлозы миксобактериями, во втором — результаты по исследованию биохимизма образования гуминовых кислот, происходящего при участии этой группы бактерий.

Изложение материала мы начинаем с кратких итогов изучения последовательности изменений растительных остатков при гумификации, имея целью показать, какое место в этом процессе занимает изучаемое нами явление.

1. Изменение растительных остатков в процессе гумификации[1]

Нами изучался процесс гумификации различных представителей травянистой растительности: корней и листьев бобовых (клевера и люцерны), злаков (тимофеевки и пырея), а также древесного опада (листьев орешника и хвои сосны). Исследования проводились в условиях лабораторных опытов (в компостах в почве и вне почвы); проверочные исследования были проведены в природных условиях в различных почвенных зонах: подзолистой (Московская область), черноземной (Куйбышевская область), зоне каштановых почв (Саратовская область), сероземной (Ташкентская область Узбекской ССР).

При изучении процесса гумификации был применен сопряженный метод химического анализа растительных остатков и микроскопирования их тканей.

Результаты исследований позволили установить ряд общих закономерностей, касающихся последовательности распада компонентов растительных остатков и скорости процесса.

Так, в первую стадию, характеризующуюся интенсивным развитием плесневых грибов и разнообразных сапрофитных бактерий, разлагаются наиболее доступные компоненты растительных тканей; процесс носит преимущественно окислительный характер до конечных продуктов минерализации, благодаря чему происходит сильное уменьшение веса разлагающихся растительных остатков. В эту стадию гумификации образования гумусовых веществ не наблюдается.

Вторая стадия характеризуется интенсивным развитием целлюлозных миксобактерий; микроскопированием удается обнаружить обильное развитие миксобактерий в тканях растительных остатков, иногда буквально заполняющих последние. С деятельностью этой группы бактерий связано образование гумусовых веществ, обычно появляющихся на месте отмирающих миксобактерий.

В эту стадию гумификации лигнифицированные ткани (водопроводящие сосуды корней, жилки листьев) еще остаются целыми. Для примера приводим некоторые фотоснимки с препаратов. На рис. 1 заснят участок вторичной ксилемы корня люцерны, в которой наблюдается развитие огромного числа целлюлозных миксобактерий. Аналогичное явление наблюдалось в эпидермисе листьев клевера, что можно видеть на рис. 2.

Наконец, в процессе гумификации растительных остатков отмечается обильное развитие актиномицетов, которые, повидимому, используют трудно разлагаемые компоненты растительных тканей, а также и новообразованные гумусовые вещества. Однако в этой стадии процесс развивается медленно, и нам не удавалось отметить изменения лигнифицированных тканей, которые, очевидно, разлагаются на еще более поздних стадиях гумификации.

Полученные данные, характеризующие последовательную смену микрофлоры разлагающихся растительных остатков, в общем совпадают с результатами исследований Красильникова и Никитиной [8], а также

[1] Данный раздел представляет краткие выводы из работ Кононовой (6), Кононовой и Бельчиковой (7), а также из неопубликованных материалов Кононовой.

Мишустина и Тимофеевой [11], которые проведены на аналогичных растительных объектах.

Быстрота гумификации, четкость смены отдельных стадий в значительной мере зависят от природы растительных остатков. Так, первая и вторая стадии гумификации листьев клевера обычно заканчиваются уже за 15—20 дней, причем развитие плесневых грибов очень слабое и заканчивается через 2—3 дня. Корни трехлетней люцерны обильно зарастают плесневыми грибами; первая стадия длится 15 дней, вторая же заканчивается через 1,5—2 месяца. Процесс гумификации корней двухлетнего пырея и тимофеевки сильно растянут, и вторая стадия заканчивается через 6—8 месяцев.

Систематически наблюдаемая связь между интенсивным развитием в разлагающихся растительных остатках миксобактерий и образованием гумусовых веществ нам казалась явлением, заслуживающим внимания.

По литературным данным известно, что представители разнообразной группы целлюлозных миксобактерий присутствуют в различных почвах, лесных подстилках, на гниющих растительных остатках, в торфах, грязевых отложениях и даже в морской воде (Исаченко и Вакенгут [5], Stapp и Borthels [18], Имшенецкий [1, 2], Мишустин [10], Stanier [16], Harmsen [13]).

Благодаря способности большинства видов целлюлозных миксобактерий помимо целлюлозы использовать разнообразные углеводы, их роль в превращении углеводных компонентов гумифицирующихся растительных остатков, несомненно, велика.

Поэтому выяснение причинной зависимости между развитием целлюлозных миксобактерий и образованием гумусовых веществ, по нашему мнению, представляет большой интерес. Разработку этого вопроса мы начали с изучения процесса разложения целлюлозы чистыми культурами миксобактерий.

2. Целлюлозные миксобактерии, участвующие в процессе гумификации растительных остатков

Для выделения чистых культур целлюлозных миксобактерий мы пользовались накопительными культурами в среде Гётчинсона; заражение производилось водной взвесью растертого растительного материала. Было отмечено, что наиболее интенсивный рост целлюлозных миксобактерий появлялся при заражении материалом, находящимся в стадии энергичной гумификации; при посеве свежим (неразложившимся) или уже прошедшим гумификацию растительным материалом рост появлялся значительно позже и был менее интенсивным.

Было выделено несколько культур целлюлозных миксобактерий, которые отличались по размерам клеток, форме плодовых тел и по отношению к различным углеводам. Из выделенных культур особой интенсивностью отличалась одна — темнобурого цвета, с которой и проведены основные исследования.

Очищение культуры производилось путем последовательных пересевов в пробирки с той же средой и с полосками фильтровальной бумаги. После нескольких пересевов уже через 1—2 дня после посева наблюдался явный рост на границе жидкости с бумагой, и через 2—3 дня в этом месте происходил разрыв последней.

Из очищенной культуры производился высев на твердую среду Гётчинсона, но с добавлением 2% крахмала в качестве дополнительного к целлюлозе источника углерода. На 2—3-й день после посева на среде появлялся сплошной желтый слизистый налет, приобретавший со временем более темную окраску, особенно по краям.

При микроскопировании поверхности чашки с малым увеличением можно было обнаружить плодовые тела с находящимися в них круглыми цистами.

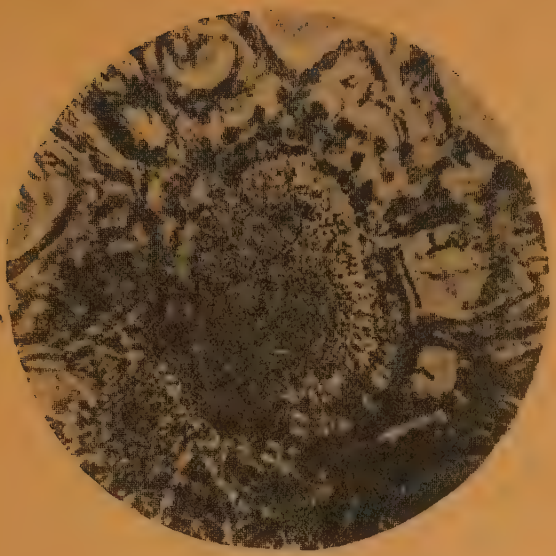


Рис. 1. Миксобактерии в водопроводящих сосудах и прилегающей паренхиме корня люцерны. × 960

Рис. 2. Миксобактерии в эпидермисе листа клевера. × 400

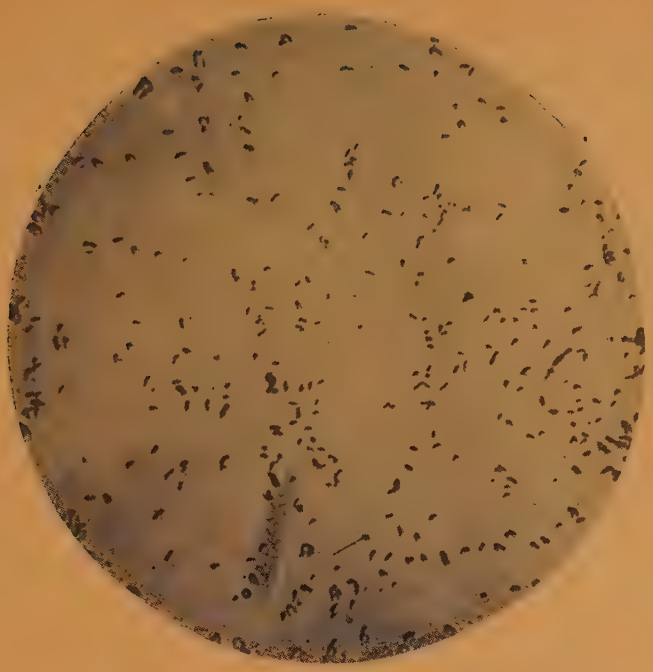


Рис. 3. Целлюлозные миксобактерии Sorangium cellulosum. × 960

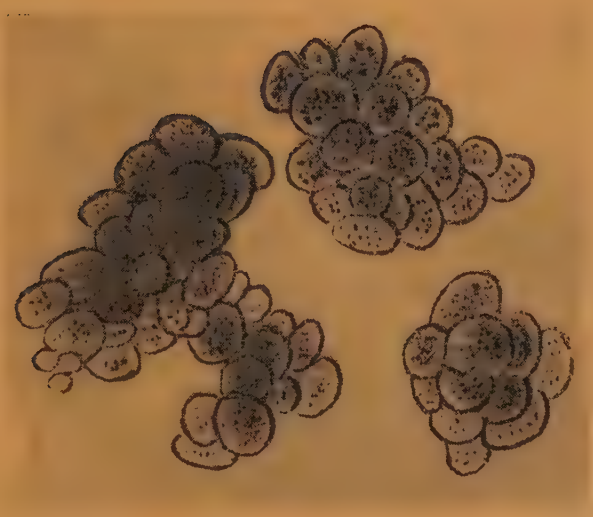


Рис. 4. Плодовые тела Sorangium cellulosum

Бактерии имеют вид палочек с закругленными концами размером 1,5 μ— 1,8μ × 0,4 μ— 0,5μ; способны к поступательному движению; при образовании цист обнаруживают тенденцию к укорачиванию.

По форме клеток, строению цист и плодовых тел и, как увидим ниже, по отношению к источникам углерода и азота выделенная нами культура близка к выделенной и описанной Имшенецким и Солнцевой [2] Sorangium cellulosum.

При высевах взвеси бактерий из больших разведений на чашки с крахмальной средой на поверхности последней вырастали отдельные мелкие колонии темнооранжевого цвета, которыми мы пользовались для получения чистых культур, что достигалось следующим простым приемом.

Путем одновременного пересева в пробирки с твердой крахмально-аммиачной средой из 40—50 таких изолированных колоний обычно нам удавалось в 2—3 пробирках получить чистую культуру миксобактерий. Проверка чистоты культуры производилась микроскопированием и посевом на МПБ и МПА. Выделенные нами культуры целлюлозных миксобактерий использовали разнообразные углеводы, что было установлено путем замены в твердой среде Гётчинсона целлюлозы на соответствующие углеводы в концентрации 0,2% и 1%.

Так, темнобурая культура миксобактерий прекрасно росла на глюкозе, галактозе, арабинозе, ксилозе, лактозе, мальтозе, декстрине, крахмале, целлюлозе. Таким образом, полученные данные совпадают с результатами работ Имшенецкого и Солнцевой [4], а также ряда других авторов (Norman и Bartholomew [15], Stanier [16, 17], Fuller и Norman [12]), которые установили способность различных целлюлозных миксобактерий использовать наряду с целлюлозой и другие углеводы.

Выяснилось также, что выделенные нами целлюлозные миксобактерии используют все формы минерального азота (аммиачный, нитритный, нитратный); из форм органического азота хорошо используется лишь аспарагин; остальные же испытываемые нами вещества — аспарагиновая кислота, пептон, легумин, глобулин — весьма слабо усваиваются целлюлозными миксобактериями, и при замене минерального азота на органический, как правило, рост бактерий был очень слабым.

Повидимому, благодаря слабо выраженной способности целлюлозных миксобактерий использовать органические формы азота, массовое развитие их в тканях становится возможным лишь после появления минерального азота, образуемого плесневыми грибами и другими представителями сапрофитной микрофлоры; однако эти группы используют наиболее доступную часть углеводных компонентов растительных остатков (растворимые углеводы, крахмал, пектиновые вещества, а также часть клетчатки).

Поэтому, несмотря на способность целлюлозных миксобактерий использовать разнообразные углеводы, по экологическим условиям на их долю остается преимущественно целлюлоза, а также, повидимому, гемицеллюлозы межклетников.

3. Биохимизм процесса разложения целлюлозы миксобактериями

Несмотря на значительное количество работ по изучению биохимизма процесса разложения целлюлозы миксобактериями, он остается не вполне выясненным. Большой интерес представляет образование в этом процессе гумусоподобных веществ, происхождение которых различными исследователями объясняется различно. Hutchinson и Clayton [14] установили, что выделенная ими Spirochaeta cytophaga разлагала целлюлозу весьма энергично, причем примерно $^2/_3$ ее минерализуется нацело, а остальная $^1/_3$ превращается в различные продукты сбраживания. Среди последних были найдены низкомолекулярные кислоты (масляная, уксусная), которые едва ли могут быть источниками для образо-

вания гумусовых веществ. Однако в этом процессе авторами было отмечено присутствие своеобразных слизистых веществ, способных растворяться в щелочи и осаждаться кислотами в виде гелей, которые и выделяются вместе с гуминовыми кислотами.

В работах других авторов с различными представителями целлюлозных миксобактерий также отмечалось образование этой своеобразной группы веществ, однако происхождение их объяснялось различно.

Согласно точке зрения, высказанной Виноградским [20] и разделяемой Лойцянской [9], а также Walker и Warren [19], разложение целлюлозы целлюлозными миксобактериями носит окислительный характер. В этом процессе свободные спиртовые группы CH_2OH целлюлозы окисляются до карбоксильных COOH, в результате чего образуются оксицеллюлозы (или уроновые кислоты). Последние и являются теми гумусоподобными веществами, которые благодаря способности растворяться в щелочи и осаждаться кислотами выделяются вместе с гуминовыми кислотами.

Однако эта точка зрения не разделяется многими исследователями. Имшенецкий [3], а также и другие (Norman [15], Stanier [16]) считают, что окисление целлюлозы до оксицеллюлоз не может объяснить энергетику процесса, так как использование миксобактериями целлюлозы в качестве энергетического материала может иметь место лишь после первоначального ее гидролиза до молекулярно-растворимых веществ, способных проникать в клетки бактерий.

По мнению Имшенецкого, гидролитический распад целлюлозы происходит до глюкозы, которая далее сбраживается миксобактериями в процессе дыхания до конечных продуктов CO_2 и H_2O. Слизистые же вещества, растворимые в щелочи и осаждаемые кислотами (по мнению Виноградского — оксицеллюлозы), представляют собой продукты ресинтеза бактерий (слизь и пигменты).

Результаты наших исследований подтвердили правильность взглядов Имшенецкого. При проведении опытов мы старались возможно тщательнее отделить продукты разложения целлюлозы от продуктов ресинтеза (слизистой массы бактерий). Постановка опытов была такова. Опыты проводились в жидких культурах, в колбах Эрленмейера емкостью 1 л; нарезанная полосками фильтровальная бумага помещалась для лучшей аэрации на стеклянный дренаж, находящийся на дне колбы, как это описано в работе Имшенецкого [13].

Объемом в 75 мл жидкой среды Гётчинсона бумага хорошо смачивалась капиллярно до самой поверхности, но не переувлажнялась. Таким приемом мы добивались интенсивного роста бактерий по всей поверхности бумаги.

Заражение производилось взвесью чистой культуры целлюлозных миксобактерий, хорошее развитие которых наблюдалось уже через 2—3 дня. По окончании опыта (обычно через 20 дней) оставшаяся бумага обмывалась водой, высушивалась и взвешивалась.

Полученные результаты	Опыт № 1	Опыт № 2
Количество заданной целлюлозы	2,00 г	1,00 г
Осталось после окончания опыта	1,54 »	0,80 »
Разложилось от первонач. колич. целлюлозы . .	0,46 »	0,20 »
» » » » » . .	23%	20%
Углерод разложенной целлюлозы	0,184 г	0,08 г
Найдено общего углерода в среде	0,051 »	0,016 »
» от общего колич. углерода разложившейся целлюлозы	27%	20%

Промывные воды вместе со средой фильтровались через полотняный, далее через бумажный фильтры, после чего в жидкости определялся органический углерод и рассчитывался баланс органических веществ.

По приведенным данным видно, что из всей разложившейся целлю-

лозы примерно $^3/_4$ минерализовалось нацело до CO_2 и H_2O и только $^1/_4$ присутствовала в среде в форме органических веществ, являющихся продуктами жизнедеятельности целлюлозных миксобактерий.

Аналогичные результаты были получены в опыте № 3, в котором целлюлоза была заменена глюкозой. Учет оставшейся глюкозы и общего углерода среды показал, что за 20 дней было разложено 86% всего количества заданной глюкозы, причем примерно $^2/_3$ ее было полностью минерализовано и только $^1/_3$ находилась в виде органических соединений, представляющих продукты жизнедеятельности миксобактерий.

Опыт № 3

Количество заданной глюкозы	0,800 г
Осталось после окончания опыта	0,113 »
Разложилось от первонач. колич. глюкозы	0,687 »
» » » » »	86%
Углерод разложенной глюкозы	0,275 г
Найдено общего углерода в среде	0,092 »
» от общего колич. углерода разложившейся глюкозы	27%

Мы попытались выяснить, какова природа органических веществ, образовавшихся в процессе разложения целлюлозы, и присутствуют ли среди них уроновые кислоты. Для этой цели объединенная из нескольких колб среда упаривалась при нейтральной реакции в вакууме, центрифугировалась для удаления тел миксобактерий и в жидкости определялись: летучие кислоты, уроновые кислоты, фурфурол, редуцирующие вещества и белковый азот.

Таблица

Состав продуктов разложения целлюлозы миксобактериями

(миллиграммов в жидкости)

Опыт	Орган. углерод жидкости	Углерод летучих к-т	Уроновые к-ты	Фурфурол	Азот белков	Восстанавливающие вещества после гидролиза с 2% HCl
С целлюлозой	204	32	Следы	Следы	4,32	Нет
С глюкозой	368 *	40	»	»	5,12	»

* За вычетом оставшейся несброженной глюкозы.

Соответствующие данные приведены в таблице, из которой видно, что в состав продуктов разложения целлюлозы входит некоторое количество летучих кислот, растворимые формы белков, являющиеся продуктами ресинтеза миксобактерий, и лишь ничтожное количество уроновых кислот и фурфурола; восстанавливающие вещества отсутствовали.

К сожалению, состав довольно большого количества присутствующих в среде органических веществ остался невыясненным, однако наиболее интересующий нас вопрос был ясен: в том случае, когда из питательной среды после окончания опыта удаляются тела (слизь) миксобактерий, в ней не обнаруживается ни уроновых кислот, ни фурфурола.

На основании полученных данных мы приходим к заключению, что процесс разложения целлюлозы миксобактериями имеет характер не окисления, а глубокого гидролиза, продукты которого используются бактериями в качестве источника энергии. Оксицеллюлозы же (уроновые кислоты), повидимому, являются не продуктами окисления целлюлозы, а продуктами ресинтеза (слизью) миксобактерий. Действительно,

произведенными нами анализами плазмы целлюлозных миксобактерий установлено присутствие в ней от 4 до 12% уроновых кислот.

Вместе с тем нам было ясно, что эти слизистые вещества не могут быть отождествлены с темноокрашенными гумусовыми веществами, которые мы систематически обнаруживали в тканях разлагающихся растительных остатков.

Попытки вызвать образование гумусовых веществ в этом процессе путем изменения состава среды остались безуспешными. Также не увенчались успехом попытки получить гумусовые вещества при автолизе тел целлюлозных миксобактерий: продукты распада были светложелтого цвета и со временем не темнели, а наоборот, становились еще более светлыми. Отсюда следовало, что наблюдаемые нами в тканях гумифицирующихся растительных остатков гумусовые вещества не могут быть только продуктами разложения целлюлозы или продуктами ресинтеза целлюлозных миксобактерий; образование их носит более сложный характер.

Выяснению механизма этого процесса посвящено второе сообщение.

Пользуемся случаем выразить большую признательность проф. А. А. Имшенецкому и проф. Е. Н. Мишустину за ценные советы при выполнении настоящей работы.

Выводы

1. При изучении последовательных изменений гумифицирующихся остатков травянистой растительности в тканях последних систематически наблюдалось развитие большого количества целлюлозных миксобактерий. Эта группа бактерий, широко распространенная в почвах, торфах, гниющих растительных остатках, имеет большое значение в разложении углеводных компонентов последних и, следовательно, в общем круговороте углерода в природе.

2. Результаты наших исследований по биохимизму процесса разложения целлюлозы миксобактериями подтвердили выводы Имшенецкого, Norman, Stanier, которые считают, что в этом процессе происходит гидролиз целлюлозы до простых соединений (повидимому, до глюкозы); последние используются целлюлозными миксобактериями в качестве источника энергии.

3. Бо́льшая часть продуктов гидролиза, соответствующая $^2/_3$—$^3/_4$ первоначального количества целлюлозы, в этом процессе минерализуется нацело, а остальная часть превращается в различные продукты брожения и продукты ресинтеза в форме плазмы миксобактерий.

4. Что касается оксицеллюлоз (уроновых кислот), обычно обнаруживаемых в разложенной миксобактериями целлюлозе, то они представляют собой не продукты окисления последней, как это предполагают Виноградский, Лойцянская, а также Walker и Warren, а являются составной частью слизи миксобактерий, в большом количестве присутствующих в целлюлозных волокнах.

Почвенный институт Академии Наук СССР
Москва

Получено 20.VII.1948

ЛИТЕРАТУРА

1. Имшенецкий А. А. и Солнцева Л. И. Об аэробных целлюлозных бактериях. Изв. АН СССР, сер. биол., № 6, 1936.
2. Имшенецкий А. А. и Солнцева Л. И. О миксобактериях, разлагающих клетчатку. Микробиология, VI, вып. 1, 1937.
3. Имшенецкий А. А. Гидролиз целлюлозы аэробными бактериями. Микробиология, VII, вып. 6, 1938.
4. Имшенецкий А. А. и Солнцева Л. И. О несовершенных формах миксобактерий. Микробиология, XIV, вып. 4, 1945.

5. Исаченко Б. Л. и Вакенгут А. М. Несколько наблюдений над циклом развития организма, разлагающего клетчатку. Архив биологических наук, **32**, вып. 5—6, 1932.
6. Кононова М. М. Применение микроскопического метода при изучении вопроса о происхождении гумусовых веществ. Почвоведение, № 6 и **7**, 1943.
7. Кононова М. М. и Бельчикова Н. П. Изучение гумификации растительных остатков микроскопическим методом. Почвоведение, № 9, 1946.
8. Красильников Н. А. и Никитина Н. И. Влияние разлагающихся корней на состав микрофлоры в почве. Почведение, № 2, 1945.
9. Лойцянская М. О первых стадиях разложения целлюлозы. ДАН СССР, XIV, № 6, 1937.
10. Мишустин Е. Н. Миксобактерии, разлагающие целлюлозу. Микробиология, VII, вып. 4, 1938.
11. Мишустин Е. Н. и Тимофеева А. Т. Смена микрофлоры при процессе разложения органических остатков. Микробиология, XIII, вып. 6, 1944.
12. Fuller W. a. Norman A. Cellulose decomposition by aerobic mesophilic bacteria from soil. J. Bact., **46**, No. 3, 1943.
13. Harmsen G. Onderzoekingen over de aerobe celluloseontleding in den grond. Groningen. Batavia. 1946.
14. Hutchinson H. a. Clayton J. On the decomposition of cellulose by an aerobic organism (Spirochaeta cytophaga). J. Agr. Sci. **9**, 193, 1919.
15. Norman A. a. Bartholomew W. The action of some mesophilic bacteria on cellulose. Proc. Soil Sci. Soc. Amer., No. 5, 1940.
16. Stanier R. A contribution to the biology of myxobacteria. Bact. Rev., **6**, No. 3, 1942.
17. Stanier R. Studies on nonfruiting myxobacteria. J. Bact., **53**, No. 3, 1947.
18. Stapp C. a. Borthels H. Microbiologische Untersuchungen d. Zellulose in Waldstreu. Ctbl. Bakt. 2. Abt., **90**, 28, 1934.
19. Walker E. a. F. Warren. The decomposition of cellulose by Cytophaga. Bioch. J., No. 1, 1938.
20. Winogradsky S. Étude sur la microbiologie du sol. Sur la dégradation de la cellulose dans le sol. Ann. Inst. Past., **43**, 549, 1929.

СИМБИОТИЧЕСКИЕ БАКТЕРИИ ЛУГОВОГО ЛИСОХВОСТА

И. Л. Работнова и *Н. И. Пономаренко*

В 1938 г. Ногтевым [2] были впервые описаны клубеньки на корнях злака Alopecurus pratensis (лисохвост). Из этих клубеньков им [3] и Мудровой [1] были выделены споровые бактерии. Основываясь на том, что эти бактерии способны расти на жидких безазотистых средах Эшби, Виноградского и Бейеринка, Ногтев предполагает, что эти бактерии, подобно клубеньковым бактериям бобовых растений, снабжают лисохвост азотом, усвоенным ими из воздуха.

В 1945 г. мы приступили к изучению бактерий лисохвоста.

Согласно с указаниями Ногтева [3, 4], мы также могли обнаружить клубеньки на каждом экземпляре лугового лисохвоста, взятого нами из Ботанического сада, с лугов окрестностей Москвы, с поймы Москвы-реки.

Клубеньки представляют собой разросшиеся боковые корешки. Молодые клубеньки покрыты эпидермисом; более старые — слоем коричневой опробковевшей экзодермы. Корневые волоски на клубеньках имеют такой же точно вид, как и на корешках. Длина клубеньков достигает 5—6 мм, толщина — 1 мм. Обычные боковые корешки имеют толщину 0,1—0,2 мм. Молодые клубеньки совершенно прозрачны. Внутри просвечивает сосудистый пучок. На ощупь клубеньки твердые, хрящеватые. При раздавливании из них вытекает прозрачный клеточный сок и они совершенно теряют упругость, становятся мягкими и дряблыми. При рассматривании под микроскопом препаратов из содержимого клубеньков как окрашенных, так и в живом виде никаких бактерий обнаружить не удается.

Нами были приготовлены микротомные срезы из парафинированных клубеньков лисохвоста. При рассмотрении этих срезов можно видеть, что клубенёк состоит из пустых паренхимных клеток, окружающих сосудистый пучок. По данным Ногтева, зимой эти клетки заполняются крахмалом.

Таким образом, изучение клубеньков лисохвоста показывает, что они сильно отличаются от клубеньков бобовых растений. Последние образуются путем разрастания перицикла и обычно без участия центрального цилиндра. Клетки паренхимы забиты массой бактерий. Клубенек совершенно не прозрачен. При раздавливании из него вытекает мутный сок, содержащий массу бактерий. На микротомных срезах с клубеньков клевера, приготовленных нами одновременно со срезами с клубеньков лисохвоста, прекрасно видны бактерии, заполняющие клетки.

Несмотря на видимое отсутствие бактерий в клубеньках лисохвоста, нами было предпринято выделение бактерий из клубеньков. Мы пользовались методикой, изложенной в монографии Израильского, Рунова и Бернард «Клубеньковые бактерии и нитрагин», применяемой при выделении клубеньковых бактерий бобовых растений. Методика заключается в стерилизации клубеньков 0,1% раствором сулемы 1—2 минуты с последующим промыванием спиртом и стерильной водой. Посев содержимого клубенька производился на МПА, агар Эшби,

морковный агар и агар из отвара сена лисохвоста. Эти работы велись в течение 3 летних сезонов с июня по сентябрь. Всего за 3 сезона было выделено из клубеньков 85 культур. 18 из них при определении оказались обычными почвенными споровыми бактериями — Bact. megatherium и Bac. cereus. Остальные 67 культур были очень сходны между собой по виду колоний и по микроскопической картине. Они не поддаются определению по определителю Бердже, Горовиц-Власовой и Цион и, повидимому, являются новым видом, который назван Нотгевым Bacillus alopecuri Nogt.

Несмотря на то, что бактерии не заполняют собой клубеньков, они с ними тесно связаны. Выделяются бактерии только с клубеньков. Со стеблей и листьев, а также с кусочков корня нам не удалось их выделить. Остается предположить, что бактерии являются ризосферными симбионтами лисохвоста, каким-то образом связанными с клубеньками. Можно думать, что из ризосферы бактерии попадают в отмершие пустые клетки поверхностного слоя. При стерилизации сулема не проникает в эти клетки, так как они заполнены воздухом. Поэтому бактерии и выделяются из клубеньков после стерилизации последних. Бактерии дают характерные колонии, позволяющие сразу отличить их на чашках Петри от других бактерий. При густом посеве они образуют мелкие кремовые колонии с гладким краем и возвышенной шероховатой серединой. При более редком посеве колонии имеют вид звездочек кремового цвета с длинными лучами с закругленными концами. На влажном агаре имеют тенденцию давать тонкую вуалевидную пленку на поверхности с лапчатым краем. На МПА рост более скудный, чем на морковном или картофельном агаре. При редком посеве на свежий морковный агар вырастают крупные звездчатые колонии до 1 см в диаметре.

На косом агаре растут в виде всползающей пленки с лопастным краем. Старые штрихи кремовые и морщинистые, несколько напоминают Bac. mesentericus.

На МПБ рост на поверхности в виде морщинистой пленки, среда остается прозрачной. На бульоне с добавлением различных углеводов (маннит, гексозы, пентозы) рост в виде пленки на поверхности, среда почти не мутится. Газообразования нет, подкисление очень слабое на глюкозе и галактозе. Крахмал не гидролизуется. На картофеле матовый, кремовый морщинистый налет. На молоке — пептонизация без подщелочения. На МПБ с KNO_3 не денитрифицирует. При посеве уколом на мясопептонную желатину рост очень медленный только на поверхности. Разжижения нет. Под микроскопом бактерии имеют вид мелких палочек 0,5—0,7 $\mu \times 1$—1,5 μ, подвижны, грамположительны. Споры вытянутые, размером $0,5 \times 1$ μ, образуются в большом количестве уже в течение первых суток, причем трудно найти спору внутри клетки, так как клетки, несущие спору, очень быстро разрушаются.

Исследование физиологии Bac. alopecuri Nogt.

Исследование способности к росту на безазотистой среде и к фиксации азота

Были предприняты попытки культивирования лисохвостных бактерий на безазотистой среде. Для этой цели был произведен посев бактерий на жидкую безазотистую среду Эшби с заменой маннита глюкозой. Среда разливалась в колбочки на 100 мл тонким слоем и засевалась небольшим количеством бактерий. Через 3 дня производился подсчет выросших клеток методом прямого счета Виноградского. Затем из первой генерации производился пересев в свежую среду и через 3 дня вновь определялся урожай. Такой же пересев был сделан и в третий раз. Возможно, что бактерии нуждаются для своего разви-

тия в витаминах. Поэтому такой же опыт был поставлен на такой же среде с добавлением автолизата дрожжей как источника витаминов. 10% автолизат добавлялся в количестве 1 мл на 1 л. Мы рассчитывали, что этого количества будет достаточно для обеспечения бактерий витаминами и в то же время слишком мало, чтобы служить источником азота. Для выяснения, в какой мере сам автолизат является источником питания, бактерии засевались в воду, содержащую 1 мл автолизата на 1 л

Результаты этих опытов приведены в табл. 1.

Таблица 1

Размножение бактерий на безазотистой среде

Среда	Количество бактерий в 1 мл в млн.					
	I генерация		II генерация		III генерация	
	вначале	через 3 дня	вначале	через 3 дня	вначале	через 3 дня
Безазотистая среда	0,02	111,6	8,37	69,7	—	—
Та же среда + автолизат дрожжей	3,8	17,4	0,2	152	2,2	121
Вода + автолизат дрожжей	3,8	4,8	1,2	17,1	—	—

Можно видеть, что на безазотистой среде идёт некоторое развитие бактерий, особенно, если в среде имеется небольшое количество автолизата дрожжей. Развитие бактерий можно заметить и на глаз, так как среда слегка мутится.

Далее были проведены определения азота в культурах бактерий и в стерильной среде. Культуры были взяты после месяца выращивания сначала в термостате, потом при комнатной температуре. Определения велись методом микро-Кьельдаля.

Таблица 2

Определение азота в культурах бактерий

Среда	Стерильная среда. N в мг на 100 мл	Культура № 2. N в мг на 100 мл	Культура № 11. N в мг на 100 мл
Безазотистая среда Эшби	0,7*	0,5	0,03
Та же среда с добавлением дрожж. автолизата 1 мл на 1 л	1,8	2,5	1,4

* Точность определения ± 0,5 мг на 100 мл среды.

Опыты показали, что культуры бактерий не усваивали азот ни на среде Эшби, ни на среде с добавлением дрожжевого автолизата. То обстоятельство, что бактерии размножаются на безазотистой среде, можно объяснить их способностью довольствоваться ничтожными количествами азота в среде.

Изучение обмена веществ у Bac. alopecuri

Опыты велись на среде следующего состава: K_2HPO_4 — 0,2 г, $MgSO_4$ — 0,2 г, NaCl — 0,2 г, K_2SO_4 — 0,1 г, сахароза — 20 г, водопроводная вода — 1 л.

К этой основной среде добавлялись различные азотистые вещества: белок — яичный альбумин 1%, пептон — 1%, 10% автолизат дрожжей — 20 мл на 1 л; $(NH_4)_2SO_4$ и KNO_3 — 0,1%. Были также поставлены опыты на безазотистой среде. Для выяснения значения угле-

водов на органических источниках азота были поставлены опыты без сахара. Для выяснения значения витаминов на белке и на минеральном азоте были поставлены опыты с добавлением дрожжевого автолизата — 1 мл на 1 л.

Среда наливалась по 100 мл в колбы Эрленмейера на 250 мл с затворами. Посев производился большим количеством бактерий с МПА. Через 5—6 дней инкубации при 30° опыт снимался. Количество клеток определялось методом прямого счета Виноградского, pH — электрометрически, сахар — методом Бертрана, газовыделение — по взвешиванию, кислотообразование — титрованием культуральной жидкости 1/10*N* щелочью, NH_3 в среде качественно — реактивом Несслера, H_2S качественно — свинцовой бумажкой, подвешенной у пробки, летучие кислоты — отгонкой с водяным паром (таблицы 3 и 4).

Таблица 3

Развитие бактерий на альбумине

	Среда	№ культуры	Число клеток: начальное	Число клеток: конечное	pH: начальное	pH: конечное	Потребление сахара в г на 100 мл	Титр. кислот на 10 мл	Газовыделение в г	Летучие кислоты	NH_3	H_2S
Без сахара	Без дрожжевого автолизата	11	$66 \cdot 10^8$	$66 \cdot 10^8$	6,3	6,1	—	0,3	0,1	Нет	Нет	Нет
		2	$66 \cdot 10^8$	$66 \cdot 10^8$	6,3	6,9	—	0,2	0,1	»	»	»
		3	$25 \cdot 10^6$	$15 \cdot 10^8$	—	—	—	—	—	»	»	»
	С автолизатом	2	$124 \cdot 10^8$	$132 \cdot 10^8$	6,0	6,3	—	0,2	0,4	—	—	—
		3	$25 \cdot 10^6$	$72 \cdot 10^8$	—	—	—	—	—	—	—	—
С сахаром	Без дрожжевого автолизата	11	$78 \cdot 10^8$	$90 \cdot 10^8$	5,9	4,9	0,43	0,3	0,05	Нет	Нет	Нет
		2	$84 \cdot 10^8$	$96 \cdot 10^8$	5,9	4,7	0,31	0,45	0,18	»	»	»
		3	$25 \cdot 10^6$	$22 \cdot 10^8$	—	—	0,29	—	—	—	—	—
	С автолизатом	11	$192 \cdot 10^8$	$582 \cdot 10^8$	6,3	5,0	0,90	1,1	—	—	—	—
		3	$2,5 \cdot 10^6$	$195 \cdot 10^8$	—	—	0,11	—	0	—	—	—
		3	$0,3 \cdot 10^6$	$1,610 \cdot 10^8$	—	—	—	—	0,3	—	—	—

Таблица 4

Развитие бактерий на мясопептонном бульоне и автолизате дрожжей

Среда	Культура	Число клеток: начальное	Число клеток: конечное	pH: начальное	pH: конечное	Потребл. сахара в г на 100 мл	Титр. кислот на 10 мл	Газовыделение в г	Летучие кислоты	NH_3	H_2S
Мясопептонный бульон с сахаром	11	$182 \cdot 10^8$	$468 \cdot 10^8$	7,0	4,7	0,57	1,3	0,2	Есть	Есть	Есть
	2	$124 \cdot 10^8$	$336 \cdot 10^8$	7,0	5,0	0,62	0,9	0,41	»	»	»
	11	$192 \cdot 10^8$	$570 \cdot 10^8$	7,6	5,2	0,64	1,57	0,4	»	»	»
	2	$168 \cdot 10^8$	$534 \cdot 10^8$	7,6	4,7	0,68	1,6	0,67	»	»	»
Мясопептонный бульон без сахара	11	$184 \cdot 10^8$	$474 \cdot 10^8$	5,9	7,6	—	0,2	1,6	Нет	Есть	Есть
	2	$96 \cdot 10^8$	$172 \cdot 10^8$	6,1	6,9	—	0,2	1,3	»	»	»
Автолизат дрожжей без сахара	11	$172 \cdot 10^8$	$348 \cdot 10^8$	6,1	7,1	—	0,15	1,24	«	Есть	Есть
	2	$90 \cdot 10^8$	$124 \cdot 10^8$	6,1	7,0	—	0,1	1,16	Нет	»	»

Опыты дали следующие результаты:

Наилучшим источником азота для развития бактерий является пептон и автолизат дрожжей. Эти вещества могут служить источником углерода и энергетическим материалом. При развитии бактерий на этих средах идет процесс аммонификации. Сахар используется бактериями и при этом образуются летучие кислоты. На белке развитие слабое и добавление сахара не улучшает рост существенным образом. Добавление дрожжевого автолизата как источника витаминов неожиданно сильно улучшает развитие на альбумине, особенно в присутствии сахара. Аммонийный азот без витаминов используется плохо. И добавление витаминов слабо улучшает развитие. KNO_3 еще менее пригодный источник азота. На базазотистой среде при внесении большого количества посевного материала идет небольшое потребление сахара, возрастает кислотность среды и выделяется небольшое количество газа. Добавление витаминов слегка активирует бактерии. В этом случае развитие идет, повидимому, за счет следов азота, имеющихся в среде и в посевном материале.

Можно заключить, что бактерии, выделяемые с клубеньков лисохвоста, относятся к группе аммонификаторов. Они нуждаются для своего развития в витаминах, но могут довольствоваться ничтожными количествами азота в среде.

Опыты с растениями

Для решения вопроса о том, существует ли физиологическая связь между бактериями, выделяющимися с клубеньков лисохвоста, и растением, были поставлены опыты со стерильными растениями. Семена

Таблица 5

Развитие бактерий на минеральных формах азота

Среда	Культура	Число клеток: начальное	Число клеток: конечное	pH: начальное	pH: конечное	Потребл. сахара в г на 100 мл среды	Титр кислот на 10 мл	Газовыделение в г на 100 мл	Летучие кислоты
$(NH_4)_2SO_4$ Без автолизата	11	$84 \cdot 10^8$	$90 \cdot 10^8$	5,9	5,2	0,24	0,5	0	Нет
$(NH_4)_2SO_4$ С автолизатом	11	$90 \cdot 10^8$	$126 \cdot 10^8$	7,3	5,4	0,45	0,8	0,4	—
KNO_3 Без автолизата	11	$96 \cdot 10^8$	$96 \cdot 10^8$	5,9	5,2	0,31	0,6	0,1	Нет
KNO_3 С автолизатом	11	$66 \cdot 10^8$	$86 \cdot 10^8$	7,3	6,5	0,22	0,2	0,35	—

Таблица 6

Развитие на безазотистой среде

Среда	Число клеток: начальное	Число клеток: конечное	pH: начальное	pH: конечное	Потребл. сахара в г на 100 мл среды	Титр кислот на 10 мл	Газовыделение в г
Без автолизата дрожжей	$90 \cdot 10^8$	$90 \cdot 10^8$	5,9	5,2	0,1	0,5	0,03
С автолизатом дрожжей	$84 \cdot 10^8$	$96 \cdot 10^8$	7,3	6,9	0,28	0,3	0,2
Контроль: вода + автолизат дрожжей	$102 \cdot 10^8$	$102 \cdot 10^8$	6,3	5,9	—	0,1	0,06

лисохвоста освобождались от одевающей их волосистой оболочки и стерилизовались 1% раствором брома. Было установлено, что семена легко переносят стерилизацию и при выдержке в растворе брома от 1 до 10 минут почти не теряют всхожести. Всхожесть резко снижается лишь при стерилизации более 10 минут. Стерилизация в течение 2 минут уже достаточна для того, чтобы получить 100% стерильных семян. Стерильность проверялась выдерживанием семян на МПА в течение одних-двух суток. Таким образом наилучшая длительность стерилизации 2—3 минуты.

Опыты на агаровой среде

Стерильные семена помещались в стерильные пробирки диаметром 3—4 см с безазотистой агаровой средой Разумовской и со средой Кроне.

Среда Разумовской

K_2HPO_4 — 1 г
$MgSO_4$ — 0,5 »
$CaSO_4$ — 0,5 »
$FeCl_3$ — Следы
Агар — 10 г
Водопроводная вода — 1 л

Среда Кроне

KNO_3 — 1 г
$MgSO_4$ — 0,5 »
$CaSO_4$ — 0,5 »
$Ca_3(PO_4)_2$ — 0,25 »
$Fe_3(PO_4)_2$ — 0,25 »
Агар — 10 »
Водопроводная вода — 1 л

Опыт был поставлен 8/IX. Пробирки стояли на окне. Через 3 месяца опыт был снят. Из-за недостатка света в зимнее время растения выросли очень слабо. Листочки в ширину едва достигали 0,5 мм, а в длину 10 см. Стерильность за время опыта не была нарушена. В пробирках, куда были внесены бактерии, корни окружены ясно видимым чехликом, состоящим из бактерий. Растения в этих пробирках заметно превосходили по размерам стерильные растения. Был определен сухой вес растений. Результаты приведены в табл. 7.

Таблица 7

Рост Alopecurus pratensis в присутствии и отсутствие бактерий на агаровой среде

Субстрат		Вес растения из одной пробирки в мг	Число растений в пробирке	Вес 1 растения в мг
Без бактерий	Безазотистая среда	3	2	1,5
	Среда с KNO_3	7	5	1,4
С бактериями	Безазотистая среда	18	6	3,0
		23	7	3,3
	Среда с KNO_3	23	6	3,8

Несмотря на скудный рост, можно полагать, что бактерии оказали благоприятное действие на растения как на безазотистой среде, так и на среде с KNO_3. Летом опыт был повторен на безазотистой агаровой среде в колбах. Посев стерильных семян производился в колбы Эрленмейера на 500 мл и на 1 л. Стерильный агар в колбах образовывал слой в 3 см. Опыт поставлен 30/VI. В течение первых 7—8 дней растения, зараженные бактериями, сильно обогнали стерильные растения. Ростки зараженных растений достигали 4—6 см, а ростки стерильных 1—2 см. Через 2 недели величина зараженных и незараженных растений сравнялась. Через 2 месяца растения в обоих вариантах были одинаковы. Рост был скудный. В вышину растения не превышали 10 см, ширина листьев 0,5 мм. Сухой вес растения приведен в табл. 8.

Как видно из таблицы, на безазотистой среде внесение бактерий не увеличило урожай существенным образом. Следовательно, бактерии не дают растениям дополнительного азота, как клубеньковые бактерии бобовых растений. Однако бактерии оказывают явно стимулирующее действие на начальные стадии развития растения.

Опыты в кварцевом песке без азота

Опыты были поставлены в колбах Эрленмейера на 1 л, в которые был внесен кварцевый песок слоем в 3 см, содержащий безазотистую солевую смесь Разумовской. Влажность поддерживалась 80% от полной влагоемкости. В часть колб были внесены бактерии, а часть оставалась стерильной. Как и в предыдущем опыте, был произведен посев стерильных семян. Стимулирующего действия бактерий в этом опыте не было. Растения выросли одинаково чахлые независимо от наличия бактерий. Через 2 месяца длина растений не превышала 10—12 см. Ширина листьев 0,5 мм. Сухой вес растений приведен в табл. 9.

Таблица 8

Рост Alopecurus pratensis в присутствии и отсутствие бактерий на агаровой среде без азота

Субстрат	Число растений в колбе	Вес всех растений в колбе в мг	Вес одного растения в мг
Стерильный агар	13	48,8	3,75
	11	59,4	5,4
	14	51,0	3,64
Агар с бактериями	13	53,0	4,05
	13	57,0	4,38

Таблица 9

Рост Alopecurus pratensis в присутствии и отсутствие бактерий в кварцевом песке на безазотистой среде

Субстрат	Число растений в колбе	Вес всех растений в колбе в мг	Вес 1 растения в мг
Стерильный песок	15	45,0	3,0
	17	98,6	5,8
С внесением бактерий	11	54,4	4,9
	15	44,0	2,9

При культивировании растений на кварцевом песке без добавления азота бактерии не улучшают развития, следовательно, не снабжают растение азотом.

Опыты со стерилизованной почвой

Огородная почва была насыпана в колбы Эрленмейера на 1 л слоем в 3 см и простерилизована 3 раза при $1^1/_2$ добавочных атмосферах. Влажность доведена до 60% от полной влагоемкости и внесены стерильные семена. Часть колб инокулирована, часть оставлена стерильными. Вначале развитие шло точно так же, как в песке. Через месяц растения в почве стали заметно обгонять растения в безазотистом субстрате. Длина листьев инокулированных растений превысила 20 см, ширина 1,5—2 мм. Стерильные растения отстали от инокулированных. Длина их листьев не превышала 15 см, ширина $1^1/_2$ мм. Через $2^1/_2$ месяца была снята часть колб. Через $3^1/_2$ месяца — остальные колбы. На инокулированных растениях можно было ясно видеть боковые корешки с раздутыми концами, что можно было принять за начало образования клубеньков. На стерильных растениях боковые корешки были совершенно нормальны. Сухой вес растений приведен в табл. 10.

Таблица 10

Рост Alopecurus pratensis в присутствии и отсутствие бактерий в почве

	Субстрат	Число растений в колбе	Вес всех растений в колбе в мг	Вес 1 растения
Через $2^1/_2$ мес.	Стерильная почва	11	115,4	10,5
	С внесением бактерий	14	203,6	14,5
Через $3^1/_2$ мес.	Стерильная почва	13	182	14,0
	С внесением бактерий	16	294	18,4

Можно предположить, что бактерии, выделенные нами с клубеньков лисохвоста, действительно вызывают образование клубеньков. Эти бактерии улучшают развитие растений, однако не снабжают их азотом. Остается неясным, как могут бактерии вызывать образование клубеньков, не внедряясь в ткань корня в значительном количестве.

В работе принимали участие студенты университета Г. К. Озолина, Е. Н. Кондратьева, Е. А. Двадцатова и В. И. Плохой.

Выводы

1. На корнях лугового лисохвоста всегда имеются клубеньки, представляющие собой утолщенные боковые корешки.
2. Летом эти клубеньки заполнены только клеточным соком и не содержат видимой массы бактерий.
3. Тем не менее из клубеньков постоянно удается выделять одни и те же бактерии.
4. Возможно, что эти бактерии способны вызывать образование клубеньков, хотя, по всей вероятности, они являются обитателями ризосферы лисохвоста.
5. Бактерии, названные Ногтевым Bac. alopecuri Nogt., являются споровыми аэробными палочками и принадлежат к группе аммонификаторов.
6. Они не способны фиксировать азот воздуха в чистой культуре, но могут развиваться на безазотистых средах, довольствуясь ничтожными примесями азотистых веществ.
7. Бактерии не снабжают растения азотом, но каким-то иным путем улучшают рост растения.

Кафедра микробиологии
Московского государственного
университета

Получено 30.X.1948

ЛИТЕРАТУРА

1. Мудрова А. А. К методике выделения чистой культуры лисохвостовой бактерии (Alopecurus pratensis), ДАН СССР, XXV, № 2, 1939.
2. Ногтев В. П. Клубеньки на корнях лугового лисохвоста (Alopecurus pratensis), их происхождение и физиологическая функция. Ботанический журн. СССР, **23**, № 2, 145, 1938.
3. Ногтев В. П. Происхождение и функции клубеньков на корнях лугового лисохвоста Bacillus alopecuri Nogt. ДАН СССР, XXV, № 2, 1939.
4. Ногтев В. П. Защитный глюкозный буфер в бактериальных корневых клубеньках лисохвоста и бобовых растений и его превращение в запасный крахмал корней. ДАН, LVII, № 8, 1947.

ЭТИОЛОГИЯ БУРОЙ (ЗЕЛЕНОЙ) ПЯТНИСТОСТИ ОГУРЦОВ

Ю. И. Шнейдер

Бурая или зеленая пятнистость огурцов, вызываемая грибом Scolecotrichum melophthorum Prill. et Del., причиняет довольно значительный вред данной культуре как при тепличном возделывании, так и в полевых условиях. Болезнь, во-первых, снижает качество продукции, образуя на плодах пятна, язвы и вызывая их искривление; во-вторых, гриб приносит вред, поражая всходы, а также приостанавливает рост молодых завязей. До последнего времени подробные сведения как о возбудителе, так и о течении болезни отсутствовали.

Относительно самостоятельной вирулентности гриба Scolecotrichum melophthorum существуют два прямо противоположных взгляда. Одни считают Scolecotrichum melophthorum сапрофитом, сопровождающим бактериальное заболевание огурцов; другие полагают, что Scolecot. melophthorum является первопричиной болезни и обладает свойствами активного паразита.

Впервые мнение о сапрофитности гриба Scolecotrichum melophthorum было высказано в 1915 г. Потебней [3]. Он предположил, что «грибок, влиянию которого приписывали язвы и искривления плодов, в действительности является лишь сапрофитом, поселяющимся на бактериальных язвах». Однако экспериментально он этого не доказал, и вопрос о самостоятельной вирулентности гриба оставался открытым.

В 1935 г. Пименова [2], изучая бурую пятнистость огурцов в условиях тепличного возделывания, пришла к выводам, которые не подтверждали мнения Потебни о сапрофитности гриба. Пименова подчеркивает, что Scolecotrichum melophthorum «не сапрофит, сопровождающий бактериальное заболевание..., а при тепличном возделывании огурцов обладает свойствами паразита».

Однако два года спустя, в 1937 г., Галачьян [1] на основании проведенных опытов снова приходит к выводу, что «первопричиной зеленой пятнистости огурцов является бактерия — Bacterium lachrymans Sm., а роль гриба сопутствующая». Галачьян утверждает, что Cladosporium herbarum Link. (синоним Scolecotrichum melophthorum, по Галачьян), «ярко выраженный сапрофит и не в состоянии самостоятельно поражать здоровые растения».

Изучение вопроса о самостоятельной патогенности гриба Scolecotrichum melophthorum, а также исследование его морфологического строения и физиологических свойств проводились в лабораториях бактериозов Московского филиала Всесоюзного института защиты растений и сотрудниками кафедры низших растений МГУ под руководством проф. Л. И. Курсанова и М. В. Горленко.

Для выяснения патогенных свойств гриба была получена чистая культура Scolecotrichum melophthorum. Искусственному заражению чистой культурой гриба подвергались всходы огурцов в стадии семядолей, в стадии первого настоящего листа, взрослые листья, а также молодые плоды. Заражение проводилось опрыскиванием всходов и плодов из оранжерейного опрыскивателя суспензией спор, взятых из чистой односпоровой культуры гриба. Проведенные исследования по-

казали, что Scolecotrichum melophthorum, взятый в чистой культуре, отдельно от бактерий, дал во всех случаях ясную картину поражения всходов и плодов огурцов, выступая в условиях высокой относительной влажности воздуха как активный паразит. Результаты опытов приведены в табл. 1.

Таблица 1

Результаты заражения огурцов Scolecotrichum melophthorum (1947 г.)

Что заражалось	Всего заражено	Из них заразилось	% заражения
Всходы огурцов в стадии семядолей . . .	15	14	93
Всходы огурцов в стадии первого настоящего листа	44	38	86
Старые листья	10	—	0
Плоды	105	95	90
Контроль	50	—	0

Scolecotrichum melophthorum способен заражать молодые части растений: семядоли, стебельки и черешки листьев, молодые листья и плоды огурцов. Старые листья и плоды с огрубевшей кожицей не заражаются грибом.

Специально поставленные опыты показали, что Bacterium lachrymans может проникать в плоды и вызывать их поражение лишь при наличии повреждения. При этом характер бактериальных повреждений плодов отличается от бурой пятнистости, вызываемой грибом. Следовательно, Scolecotrichum melophthorum и Bacterium lachrymans могут самостоятельно вызывать заболевание огурцов. При заболевании плодов бурой пятнистостью гриб является главной причиной болезни и первичным фактором.

Изучение влияния влажности на возникновение и развитие бурой пятнистости показало, что высокая относительная влажность воздуха (90% и выше) является решающим фактором, обусловливающим развитие данной болезни. Температура играет роль сопутствующего фактора. Высокая температура свыше 25—30° сильно тормозит развитие болезни.

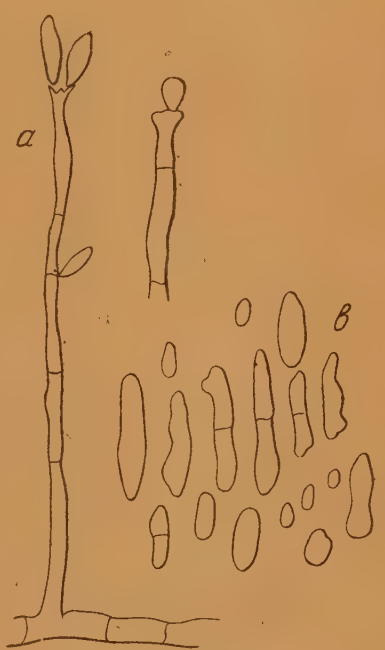


Рис. 1. Конидиеносцы и конидии Scolecotrichum melophthorum. *a* — конидиеносцы сверху (видны зубчики); *b* — конидии

Проведены были также исследования о тождественности видов Cladosporium herbarum Link. и Scolecotrichum melophthorum Prill. et D. Галачьян утверждает, что «Scolecotrichum melophthorum повторяет все признаки обычных форм Cladosporium и что их, следовательно, можно считать за синонимы». Галачьян в своей работе упоминает, что Cladosporium herbarum в первой половине покрывает сплошным сажистым налетом отмершие части растений, т. е. ведет себя, как сапрофит.

Этот факт, а также отрицательные результаты опытов по искусственному заражению плодов огурцов Cladosporium herbarum заставили критически подойти к выводам данного исследования и подвергнуть их экспериментальной проверке.

Сравнительная характеристика морфологических признаков данных видов, взятых в чистой культуре, подвергнутых микроскопическому исследованию, показала ясные отличия в строении и форме конидиеносцев, в их окраске, а также в форме и величине конидий (рис. 1 и 2).

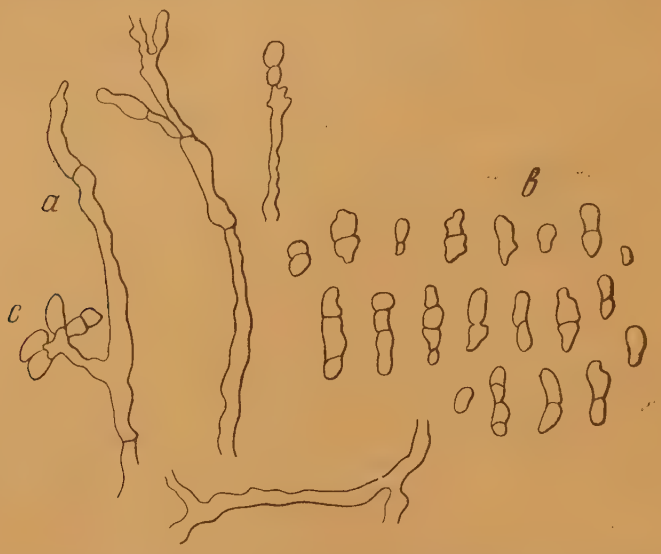


Рис. 2. Конидиеносцы и конидии Cladosporium herbarum. *a* — разветвленный конидиеносец: *b* — конидии; *c* — розетка конидий

На основании детального макроскопического и микроскопического изучения каждого из выше указанных видов можно дать следующую характеристику каждого из них:

1. Scolecotrichum melophthorum Prill. et Del.

Закладывающиеся колонии светлооливковые, бархатистые, впоследствии темнеющие; конидиеносцы прямостоячие, неразветвленные, гладкие, длиной 100—200 μ, шириной 5—6 μ, с зубчиками на конце, на вершине несут конидии, в большинстве одноклетные, лимоновидные, яйцевидные, удлиненно-цилиндрические, длиной 10—40 μ, шириной 3,5—8 μ, или реже с одной перегородкой, длиной 25—40 μ, шириной 5—8 μ, при этом обе клетки одинаковых размеров, оболочка без перетяжки. Паразит вызывает поражение молодых плодов и всходов огурцов, на которых образует язвы.

2. Cladosporium herbarum Link.

Закладывающиеся колонии светлозеленоватые, затем темнеющие. Конидиеносцы приподнимающиеся, одиночные или пучками, часто ветвятся, бугристые, септированные, длина достигает 1/3 мм, на вершине узловатые, зубчатые, конидии иногда одноклетные, продолговатые, яйцевидные, овальные, чаще с 1—3 перегородками, делящими кони-

дию на неравные клетки цилиндрической, продолговато-эллипсоидальной формы, длиной 12—28 μ, шириной 6—7 μ. Оболочка с перетяжками, конидии слегка шероховатые. Сапрофит.

Выращивание этих двух грибов на определенном наборе стандартных сред (бралась жидкая среда Чапека с добавлением специфических источников углеродистого питания) с целью выяснения возможных физиологических отличий показало, что Scolecotrichum melophthorum и Cladosporium herbarum по-разному относятся к одним и тем же углеводам. На табл. 2 приведены сравнительные данные по количественной характеристике данных двух грибов, которые росли в одинаковых условиях (цифры указывают сухой вес выросшего мицелия в миллиграммах).

Таблица 2

Результаты количественной характеристики грибов Scolecotrichum melophthorum и Cladosporium herbarum

Источник углеродистого питания	Вес сухого мицелия на 30-й день после посева	
	Scolecot. melophthorum	Cladosp. herbarum
Глюкоза	284	591
Сахароза	176	597
Лактоза	218	330
Лимоннокислый калий	98	120
Глицерин	44	70
Целлюлоза	Слабый рост в виде серого налета	Обильный рост в виде сплошного черного налета; разрушение целлюлозы

Из данных, приведенных в таблице, видно прежде всего, что данные виды по-разному относятся к одинаковым углеводам. Но гораздо показательнее, что сапрофитная форма Cladosporium herbarum давала более обильный рост мицелия по сравнению со Scolecotrichum melophthorum на одинаковых сахарах, причем вес сухого мицелия Cladosporium herbarum в $1^1/_2$—3 раза больше, чем вес Scolecotrichum melophthorum. Как и можно было предвидеть, Cladosporium herbarum давал более обильный рост и на менее ценных в питательном отношении источниках углеродистого питания, как лимоннокислый калий и глицерин, и особенно при росте на целлюлозе.

Наблюдались и макроскопические отличия роста колонии каждого из грибов при культивировании на одинаковых средах. Следовательно, и исследования физиологических свойств данных грибов дали ясную картину их отличия и подтвердили результаты микроскопических исследований.

Проведенные, наконец, опыты по искусственному заражению плодов огурцов чистой культурой Cladosporium herbarum дали отрицательные результаты. Cladosporium herbarum не вызывал заражения плодов, в то время как Scolecotrichum melophthorum в тех же условиях опыта давал 100% заражение.

В заключение считаю своим долгом выразить глубокую благодарность профессору Л. И. Курсанову и М. В. Горленко за систематическое руководство и помощь, а также за ценные указания, которые я получал в процессе работы над данным вопросом.

Выводы

1. Scolecotrichum melophthorum является вполне самостоятельным видом с характерными морфологическими признаками и физиологическими свойствами. Он обладает хорошо выраженными патогенными свойствами.

2. Cladosporium herbarum, отличающийся от Scolecotrichum melophthorum по своим морфологическим признакам и физиологическим свойствам, является сапрофитом, поселяющимся на отмерших тканях различных растений и других мертвых субстратах, и не способен самостоятельно поражать растения.

Московский филиал
Всесоюзного института
защиты растений

Получено 24.VIII.1948.

ЛИТЕРАТУРА

1. Галачьян Р. М. Этиология «зеленой пятнистости» огурцов в условиях Ленинградской обл. как обоснование мер борьбы с нею. «Защита растений». Сб. 15, Ленинград, 1937.
2. Пименова А. С. Изучение бурой пятнистости огурцов и изыскание мер борьбы с ней. Тр. с.-х. академии им. К. А. Тимирязева, 1, вып. II, Москва, 1935.
3. Потебня А. А. Грибные паразиты высших растений Харьковской и смежных губерний. Изд. Харьков. обл. станции, № 1, 1915.

МЕТОД ЭЛЕКТРОФОРЕЗА В ИССЛЕДОВАНИИ ГРЕНЫ ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА НА ПРИСУТСТВИЕ В НЕЙ ВИРУСА ЖЕЛТУХИ

Е. Т. Дикасова

Изучение вируса желтухи с привлечением серологического метода приводит к убеждению о возможности эндогенного инфицирования грены шелкопряда [1, 2]. Решение этого вопроса является интересным не только с точки зрения изучения биологии вируса желтухи, но и имеет огромное значение при разработке мер борьбы с этим весьма вредоносным возбудителем заболевания.

Опыты по исследованию грены методом электрофореза проводились в аппарате, сконструированном по схеме, указанной проф. Товарницким (ВИЭМ, Москва).

В качестве источника энергии мы пользовались динамомашиной мощностью в 150 вольт. Медные электроды погружались в химически чистый 10% раствор $CuSO_4$ [3]. Изогнутые трубки прибора, служащие для препятствия диффузии частиц, переносимых электротоком, наполнялись 2,5% агаром, приготовленным на 10% химически чистом KCl. В качестве раствора-разбавителя употреблялась фосфатно-буферная среда $^1/_{300}$ молярного раствора.

Первые опыты по электрофорезу проводились с целью выяснения возможности при помощи электротока увеличивать концентрацию вируса желтухи, взвешенного в жидкой среде [4, 5]. Для этого мы испытывали действие электрофореза на гемолимфу больных желтушных гусениц.

Для каждого опыта использовалось 0,5 мл гемолимфы, полученной от желтушной гусеницы. Опыты проводились при температуре 27°. С целью выяснения оптимальных условий для скопления вируса на полюсе нами испытавался pH фосфатно-буферного раствора, равный 7,2; 7,4; 7,6; 7,8.

В результате этой предварительной разведки нами установлено, что наиболее активное передвижение к полюсу взвешенных полиэдров наблюдалось при испытании раствора-разбавителя, pH которого равнялся 7,8 [6]. Об интенсивности процесса мы судили по скорости передвижения к положительному полюсу желтушных полиэдров, обусловливающих появление мути.

Испытаний более щелочных растворов не производилось, так как известно, что нейтральная реакция среды является оптимальной для вируса желтухи. Увеличение же кислотности и щелочности инактивирует его. Попутно с уточнением pH раствора уточнялось и время, необходимое для максимального скопления полиэдров у полюса прибора. При проведении этих предварительных опытов мы наблюдали, что некоторое время после включения электротока в сеть в виде дымового облака отделялась мутная желтоватая жидкость (такой вид ее обусловлен примесью желтушной гемолимфы), постепенно передвигавшаяся к положительному полюсу, где она и сгущалась. Жидкость у отрицательного полюса прибора во все время работы аппарата оставалась без видимых изменений — такой же прозрачной и бесцветной.

Помимо наблюдений за передвижением частиц, взвешенных в желтушной гемолимфе, нами производилось систематически в течение всего этого процесса исследование под микроскопом жидкостей, взятых у обоих полюсов прибора. В результате микроскопирования установлено, что на положительном полюсе прибора полиэдры скоплялись одновременно с появлением мути у агаровой мембраны. Затем они в основной своей массе вместе с другими взвешенными в гемолимфе клетками осаждались на поверхности агара в виде пленки. Этими наблюдениями нами установлено, что в наибольшей массе полиэдры могут быть обнаружены у полюса при появлении пленки на агаре, которая и концентрирует в себе основную массу полиэдров. Продолжительность воздействия электротока до появления такой пленки в наших опытах равнялась 3 часам.

В препаратах, приготовленных из жидкости, взятой у отрицательного полюса, полиэдров ни в одном случае за все время проведения опытов не удавалось обнаружить.

Таким образом нами установлено, что при воздействии электрического тока на полиэдры, взвешенные в слабо щелочной среде, наблюдалась концентрация их только на положительном полюсе прибора.

В следующей серии опытов испытывалось воздействие электрофореза на белок грены с целью выяснения возможности содержания в нем желтушных полиэдров.

Для этой цели использовалась грена, полученная от бабочек, содержащих полиэдры. Исследуемая грена обеззараживалась с поверхности воздействием на нее 2% раствором NaOH в течение 1 минуты, с последующим промыванием в течение 1 часа под струей водопроводной воды и выдерживанием в течение 30 минут в 96% спирте. Следует заметить, что такая обработка грены щелочью безусловно приводит к растворению полиэдров, могущих быть на поверхности ее, так как при наблюдении за этим процессом под микроскопом растворение полиэдров происходило полностью мгновенно. Грена раздавливалась в ступке; после этого экстракт из грены отжимался через марлю, смешивался с фосфатнобуферной средой и подвергался воздействию электрофореза. По окончании воздействия электротока взвесь, сконцентрировавшаяся на положительном полюсе прибора, исследовалась под микроскопом. В результате микроскопирования были обнаружены полиэдры, которые встречались под микроскопом по 1, реже по 2—3 в одном поле зрения микроскопа.

В следующем опыте мы при аналогичных условиях испытывали экстракт из грены, полученной от гусениц, сильно пострадавших от желтухи. В этом случае нам также удавалось находить полиэдры в препаратах, но встречались они значительно реже. О нахождении в яйцах шелковичных гусениц полиэдров, в результате гистологических исследований их, пишет Teodoro.

Однако данные Теодоро оказались недостаточно убедительными, так как автор дает весьма неполное описание найденных включений, а главным образом, вследствие того, что в этой работе в качестве фиксатора применялась жидкость Carnoy, которая содержит уксусную кислоту, разрушающую полиэдры. Нам же удалось с совершенной достоверностью выделить полиэдры из белка грены.

Помимо таких микроскопических исследований взвеси, выделенной на положительном полюсе прибора, нами была сделана попытка проверить вирулентность ее для гусениц.

Однако первый опыт у нас оказался неудачным ввиду следующих обстоятельств. Аппарат для электрофореза сконструирован таким образом, что жидкость, подвергаемая воздействию электротока, непосредственно соприкасается с окружающим воздухом, а поэтому имеется возможность для попадания в нее бактерий. Бактериальные же клетки

имеют подобно вирусу электрический заряд отрицательный. Следовательно, они перемещались и концентрировались одновременно с полиэдрами на положительном полюсе прибора. При заражении гусениц впрыскиваниями такого загрязненного материала они погибали от сепсиса до проявления у них желтухи.

Неудачи в проведении этого опыта привели нас к мысли сократить время воздействия электротока за счет усиления его напряжения. После проведения пробных опытов с полиэдрами установлено, что при воздействии электрического тока мощностью 260 вольт в течение 30 минут полиэдры, взвешенные в жидкости (фосфатнобуферная среда $^1/_{300}$ молярного раствора + белок грены), в большом количестве концентрировались у положительного полюса в виде пленки. При более же продолжительном воздействии электротока полиэдры входят в поверхностный слой агара, соприкасающегося с исследуемой жидкостью, и в этом случае они не обнаруживались в месте взятия пробы, а слой агара, граничащий с исследуемой жидкостью, становился мутным. При введении гусеницам жидкости, подвергаемой электрофорезу в течение 30 минут, гусеницы гибнут от сепсиса в единичных случаях. Таким образом, при этом способе экспериментирования сохранялась возможность проверки вирулентности исследуемых взвесей на гусеницах.

Для проведения этих опытов были использованы два образца грены, полученной с Ферганского гренажного завода (г. Фергана Уз. ССР), и грена от бабочек, экспериментально зараженных желтухой на стадии куколки. Для каждого опыта отвешивался 1 г грены, отобранной по одному яйцу и обеззараженной с поверхности способом, описанным выше. Затем грена растиралась в ступочках, а белок из нее отжимался через стерильные кусочки марли и подвергался воздействию электротока в течение 30 минут. После окончания воздействия электротока из поверхностного слоя каждой бранши прибора бралась жидкость, которая впрыскивалась гусеницам в первый день V возраста. Для контроля на чистоту материала оставлялись такие же гусеницы — неинъицированные.

Данные наших экспериментов приведены в прилагаемых таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Испытание на гусеницах взвеси, выделенной методом электрофореза из грены Ферганского грензавода

Опыт № 1

Наименование пробы	Число гусениц, взятых для опыта	Число гусениц, погибших от желтухи, по дням					Число гусениц, завивш. коконы
		15/IX	16/IX	17/IX	18/IX	19/IX	
Анод	19	1	6	5	2	—	5
Ср. бранша	20	—	—	—	—	2	18
Катод	20	—	—	—	1	—	19
Контроль	20	—	—	—	—	—	20

Проведенные исследования показали, что взвесь, выделенная у положительного полюса прибора, во всех опытах оказывалась инфекционной для большинства инъицируемых ею гусениц.

Итак, при исследовании грены методом электрофореза получены данные, утверждающие не только возможность внутреннего инфицирования грены, полученной от экспериментально зараженных желтухой бабочек, но и грены, находящейся в промышленных условиях.

Таблица 2

Испытание на гусеницах взвеси, выделенной методом электрофореза из грены, полученной от зараженных желтухой бабочек

Опыт № 2

Наименование пробы	Число гусениц, взятых для опыта	Число гусениц, погибших от желтухи, по дням					Число гусениц, зав.изш. коконы
		20/IX	21/IX	22/IX	23/IX	24/IX	
Анод	20	1	—	—	14	5	—
Ср. бранша	20	—	—	1	—	—	19
Катод	20	—	—	—	—	—	20
Контроль	20	—	—	—	—	—	20

Выводы

При исследовании методом электрофореза полиэдры желтухи тутового шелкопряда, взвешенные в слабо щелочной среде, скопляются у положительного полюса прибора.

При воздействии электрического тока на экстракт из грены у положительного полюса прибора появляется взвесь, содержащая желтушные полиэдры.

Введение гусеницам полученной взвеси приводит к гибели их от желтухи.

Итак, исследование грены тутового шелкопряда методом электрофореза привело к обнаружению в ней полиэдров — носителей вируса желтухи.

Среднеазиатский научно-исследовательский институт шелководства.
Ташкент

Получено 20.VI.1948

ЛИТЕРАТУРА

1. Дикасова Е. Т. Получение высокоактивной сыворотки к вирусу желтухи тутового шелкопряда. Микробиология, XVI, вып. 4, 1947.
2. Дикасова Е. Т. Серодиагностика вируса желтухи тутового шелкопряда. Микробиология, XVII, вып. 2, 1948.
3. Рабинович А. И. и Фодиман Г. В. К методике катафоретических измерений. Журн. физ. химии, III, вып. 1, 1932.
4. Шредер В. Н. Катафорез, его значение для вопросов биологии. Журн. эксп. биол., сер. Б, 1, № 3—4, 1925.
5. Шредер В. Н. О природе электрокинетических потенциалов живых клеток. Журнал эксп. биол. и мед., V, № 4, 1936.
6. Bergold H. u. Schramm G. Biochemische Charakterisierung von Insektenviren. Biol. Ctbl., 62, H. 3/4, 1942.
7. Teodoro G. E il gialbume una malattia ereditaria? Ann. di Padova, XLV, 1927.

ИТОГИ ИЗУЧЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БОЛЕЗНЕЙ РАСТЕНИЙ В СССР ЗА 30 ЛЕТ (1917—1947).

(Обзор)

М. В. Горленко

До Великой Октябрьской революции в России специально изучением бактериозов занимался только И. Л. Сербинов [1], заложивший основы учения об этой группе заболеваний растений в нашей стране. Кроме него, производились отдельные исследования бактериозов сахарной свеклы (Тржебинский, 1906), картофеля (Любик, 1915), плодовых деревьев (Дорогин, 1917; Семашко, 1916).

В первые годы после Великого Октября изучением бактериозов также занимались только отдельные лица. Однако число их все время увеличивалось. Из них следует назвать Ячевского, Израильского, Бургвица, Жаворонкову, Взорова. Начиная с тридцатых годов, стали создавать целые лаборатории, занимающиеся бактериозами растений. Одни из первых возникли лаборатории В. И. Взорова и В. П. Израильского [2].

В последние годы исследование бактериозов растений в СССР ведется в ряде специальных лабораторий.

В связи с этим исследовательская работа по бактериозам достигла значительного размаха. Этим вопросом уже занимаются не отдельные лица, а целые коллективы. Это стоит в тесной связи с теми запросами, которые предъявляло развивающееся социалистическое сельское хозяйство к фитопатологии. За истекшие 30 лет разрабатывались как общие вопросы учения о бактериозах, так и отдельные заболевания из этой группы.

Интересно отметить следующий факт. Из 400 зарегистрированных нами русских работ по бактериозам растений на период до 1917 г. приходится 25, с 1917 по 1930 г.— 35 и с 1930 по 1947 г.— 340.

Это связано с возросшими запросами сельскохозяйственного производства к фитопатологии в связи с начавшейся в годы сталинских пятилеток реконструкцией и подъемом сельского хозяйства.

Общие вопросы учения о бактериозах

Диагностика бактериальных болезней растений. Этот вопрос разрабатывался особенно детально, причем главным образом в связи с упрощением существующих методов диагностики.

Израильский разработал серологический метод определения ряда

---

[1] См. его некролог, написанный А. С. Бондарцевым в журн. «Болезни растений», XIV, стр. 149, 1925.

[2] Состояние изученности бактериозов растений в 1927 г. можно видеть из статьи Г. К. Бургвица «Бактериозы растений и работа отдела фитопатологии Главного Ботанического сада по изучению их в СССР», «Болезни растений», XVI, № 1, стр. 31, 1927. Из первых исследователей бактериозов, кроме упомянутых нами, Бургвиц указыват также на К. Ф. Штробиндера.

бактериозов (цитрусовых, фасоли, томатов), основанный на постановке реакции преципитации с экстрактами растений. Предложенный метод получил распространение в практике карантинных лабораторий.

Беленький (1940) предложил капельный метод агглютинации для обнаружения возбудителя черного бактериоза пшениц, Галачьян (1946) — аналогичный метод для базального бактериоза той же культуры и Типограф (1939) — для определения зараженности картофеля кольцевой гнилью.

Артемьевой (1938) для диагностики зараженности томатов бактериальным раком, а Типограф для той же работы с кольцевой гнилью картофеля разработан метод окраски тканей растений по Граму. Он основан на том, что возбудители указанных болезней красятся по Граму положительно, основная же масса других бактерий — отрицательно. Указанная методика широко применялась в производственных условиях.

Взоров (1936) стандартизировал методику выделения и идентификации фитопатогенных бактерий. Им предложен способ отделения их от сапрофитных форм путем добавления к питательной смеси минимальных количеств генциан-виолета. В эту же группу могут быть отнесены работы Лебежинской (1935).

Вердеревский (1938) совместно с Ватолкиной предложили определять зараженность семян хлопчатника гоммозом по проявлению инфекции на семядолях, причем для выявления последней семена высаживаются в пробирки со стерильным песком. При анализе семян таким способом часто происходит загнивание всходов, причиной которого является развитие на растениях сапрофитной бактерии, определенной Лебедевой как Bac. cohaerens Gottheil.

В принципе близкий метод был разработан Горленко (1947) для анализа зараженности семян огурцов бактериозом, причем семена здесь высеваются не в пробирки, а в ванночки с прокаленным песком или землей. Этот метод может применяться и для других культур, страдающих от бактериозов, у которых болезнь проявляется на семядолях (фасоль, соя, дыня, тыква и др.). Он может использоваться для быстрого испытания новых обеззараживающих веществ.

Разработанный Федотовой (1937) серологический метод определения устойчивости сортов хлопчатника к заболеваниям имел в виду и устойчивость этой культуры к гоммозу.

Бактериофаги фитопатогенных бактерий. В 1928 г. Израильский опубликовал исследование, показавшее, что отсутствие бактерий в опухолях, вызываемых Bact. tumefaciens Sm. et Tows., происходит от накопления там бактериофага. Это было в то время большой новостью, так как считалось, что бактерий в опухолях нет вследствие накопления там уксусной кислоты. Еще раньше Ячевский (1926) напечатал обзорную статью о применении бактериофагов в фитопатологии, положившую начало целому ряду работ по этому вопросу. У нас бактериофаг был открыт Лебедевой (1936) для Bact. malvacearum Sm., Обермейстер (1935) для Bact. tabacum Wolf et Foster, Бибердиевой (1936) для Bact. mori (Lamb. et Boyer) Smith и Чистосердовой (1938) для ряда фитопатогенных бактерий. Лебедева (1936) и Новикова (1940) делали попытки использования бактериофага для борьбы с гоммозом хлопчатника и рябухой табака.

Весьма интересны и оригинальны работы Бельтюковой (1946) по влиянию фитогормонов на изменчивость микробов и их патогенные свойства. Ею показано, что ауксин и ряд других веществ из группы фитогормонов могут снижать вирулентность возбудителя гоммоза хлопчатника и рябухи табака, а также увеличивать устойчивость растений к названным заболеваниям.

Антагонистическим взаимоотношениям между фитопатогенными и почвенными микробами посвящен ряд работ Бельтюковой (1940), а также Хетагуровой и Олицкой (1941). Близко к этим работам примыкают исследования Воронкевич (1947) по выживаемости Bact. aroideae Tows. и Bact. carotovorum (Johnes) Burgw. в почве, а также работы Израильского и др. по тому же вопросу в отношении Bact. mori (Lamb. et Boyer) Smith. Они показали, что в нестерильной почве указанные бактерии быстро погибают.

Для понимания эволюции паразитизма фитопатогенных бактерий большой интерес представляют работы Кублановской (1937) по поражению ирисов Bact. fluorescens (Flügge) Lem. et Nehm., Авакян (1945) по развитию Bac. mesentericus vulgatus Flügge на абрикосах и ряд других. Значительный интерес представляют работы Хетагуровой (1947) по биологическим особенностям фитопатогенных бактерий.

Географическое распространение бактериозов. Первый список бактериозов в СССР был опубликован Взоровым (1938). Им было описано 56 видов, из которых 16 были зарегистрированы впервые в Европе. Этот список был дополнен и уточнен Горленко (1947), причем последний разделяет всех встречающихся в СССР бактерий по степени их распространения. Он различает космополитов (в пределах СССР), бактерий с ограниченным и прерывистым ареалом, редких видов и видов, встречающихся в виде небольших очагов. В настоящее время бактериальные болезни зарегистрированы на 67 культурных растениях, причем общее число известных в СССР видов достигает 80. На очереди стоит создание «Флоры фитопатогенных бактерий Советского Союза».

За это же время в СССР вышла книга: А. А. Ячевского «Бактериозы растений» (1935), не имеющая себе равных в мировой литературе, и книга Г. К. Бургвица «Фитопатогенные бактерии» (1935).

Результаты изучения отдельных бактериозов

Бактериальные болезни злаков. Открытие и изучение бактериозов злаков происходило после Октябрьской революции. Первое упоминание о бактериозах злаков мы находим у Ячевского (1925). Несколько позднее Фоминым (1928) был детально изучен черный бактериоз. За последнее время детально изучена вредоносность так называемого черного бактериоза; установлено, что распространение болезни ежегодно происходит через семена и отчасти остатки урожая. В связи с этим много внимания уделялось способам обеззараживания семян; при этом выявлено, что основное значение имеют здесь протравители, проникающие внутрь семян. Выявлены определенные закономерности в поражаемости ботанических разновидностей мягких пшениц. Оказалось, что сильнее поражаются красноколосые пшеницы, слабее — белоколосые. Труновым (1939) и Горленко (1939) предложен первичный вариант системы мероприятий по борьбе с черным бактериозом. Изучением Bact. atrofaciens McCull занималась Галачьян (1946). Она предложила серологический метод для диагностики этой болезни, а также дала методику определения патогенности отдельных ее рас. Горленко и Найденко (1945) выявили наличие в СССР Bact. coronafaciens Ell. и установили, что основным источником заражения овса этой болезнью являются остатки больных растений.

Гоммоз хлопчатника. Первые исследования по этому заболеванию принадлежат Ячевскому и его сотрудникам. Они были обобщены им в его монографии «Болезни хлопчатника» (1930). С 1931 г. изучением гоммоза начал заниматься Вердеревский (1938) и др. Им подробно разработана техника протравливания семян хлопчатника формалином, применяемая в производстве. Им и Бабаяном

(1939), Московцем, Васильевым и другими изучены биологические особенности возбудителя гоммоза, влияние агроприемов на его развитие в поле и т. д. В результате всех этих работ у нас создана система мероприятий по борьбе с гоммозом. Грушевским (1940) и Васильевым разработан метод централизованного протравливания семян хлопчатника и спроектирован специальный цех для этих работ при хлопкоочистительных заводах. Несколько таких цехов уже построено. В годы войны Вердеревский разработал технику протравливания семян хлопчатника суперфосфатом, а также ослабленными дозами формалина. Ряд протравителей местного производства предложил Бабаян (хлорная известь, препарат АБ).

На основе предложенного Вердеревским (1938) провокационного метода, состоящего в искусственном заражении семян суспензией Bact. malvacearum Sm., выведены устойчивые к гоммозу сорта хлопчатника, получившие распространение в новых районах хлопкосеяния. Большой интерес (не только для культуры хлопчатника) имеют работы Вердеревского по проникновению водных растворов формалина в семена.

Бактериозы табака. Тверской был первым, кто экспериментально показал наличие в СССР бактериальной рябухи табака [3]. Затем аналогичные работы проведены Кохановской (1929), Поповой (1940), Горленко и Куприановым (1930), Медишем (1931). Позднее Бельтюкова, Самоцветова, Лебедева, Обермейстер (1935) очень подробно исследовали возбудителя этой болезни (Bact. tabacum Wolf et Foster) и установили, что он гибнет в почве, сохраняется на семенах и неперегнивших остатках растений. Бактерии, кроме табака, поражают ряд других растений. Грушевой разработал способ протравливания корней рассады для борьбы с рябухой и другими болезнями табака. Имеется метод протравливания семян формалином (1 : 50), а также система мероприятий по борьбе с рябухой (Грушевой, 1935).

Кроме Bact. tabacum W. et F., в СССР отмечены и возбудители других пятнистостей листьев (Bact. angulatum Fr. et Murr., Bact. pseudozooglea Honing и др.). Есть предположение об идентичности этих видов. Взоров описал новый вид бактерий, вызывающий пятнистость листьев табака, назвав его Bact. heteroceum Wsorow. Этот вид обладает очень неустойчивыми паразитическими свойствами. Бельтюкова и Попова (1936) подробно исследовали бактериальную болезнь стеблей махорки, выражающуюся в загнивании их сердцевины. Она, по их данным, вызывается Bact. carotovorum (Jons) Burgw.

Бактериальные болезни сахарной свеклы. Работами Муравьева (1939), Морочковского (1935), Кочура (1936), Бабицкой (1934) и ряда других установлено, что бактериозы, зарегистрированные на свекле, за немногим исключением, развиваются лишь на ослабленных растениях, вызывая те или иные патологические процессы (хвостовая гниль, некроз сосудистых пучков, корнеед, дырчатая пятнистость). В 1928 г. Калашников обнаружил на свекле впервые в СССР Bact. scabiegenum Faber (бактериальную паршу). Следует также отметить работы Буромского и Матюшенко (1934) по слизистому бактериозу свеклы.

Бактериозы овощных культур

Томаты. Наиболее полно изученным заболеванием здесь является бактериальный рак. Подробно изучена биология возбудителя, установлено, что он не может жить в почве, передается с семенами, при-

[3] Журнал 38-го заседания секции по микологии и фитопатологии Государственного Русского Ботанического об-ва 17 марта 1928 г. Материалы по микологии и фитопатологии, VII, вып. 1, стр. 286, 1928.

чем инфекция здесь главным образом поверхностная. Изучены пути распространения болезни в течение вегетационного периода (Израильский; Осницкая). Разработаны способы обеззараживания семян томатов бактерицидом Збарского и сулемой (Израильский и Артемьева, 1938). Яцынина (1941), используя устойчивый к этой болезни Solanum pimpinellifolium, вывела сорта томатов, устойчивые к бактериальному раку. Большая работа проведена по изучению распространения бактериального рака томатов в СССР. В результате этой работы установлено, что он встречается во многих местах нашей страны и, вероятно, является давно распространенным заболеванием, которое смешивали с другими. По борьбе с раком томатов разработана хорошо обоснованная система мероприятий.

Вершинная гниль плодов долгое время причислялась к бактериозам (Бургвиц, 1927). Даже последнее время Галачьян (1946) доказывает, что первопричиной болезни являются бактерии и она передается с семенами. Однако работы Алимбековой (1940) и Осницкой (1937) показали, что болезнь возникает от нерегулярного полива, от чего происходит отмирание клеток на вершине плода. Бактерии играют вторичную роль. В 1937 г. появилась небольшая заметка Яцыниной, в которой впервые указывалось на наличие в СССР черной бактериальной пятнистости томатов (Bact. vesicatorium Doidg.). Затем она была найдена Серебряковым в Краснодаре, а потом еще в ряде других мест. Болезнь совсем не изучена. Между тем вред от нее очень велик. Например, в 1947 г. в пойме р. Дона под Воронежом мы видели жесточайшее поражение томатов этой болезнью, приводившее к гибели целых кустов. Бургвиц (1927) изучал возбудителя водянистой гнили плодов томатов и считает, что таковым является организм, близкий к Bact. aroideae Tows.

Огурцы. Первые сведения о бактериозе огурцов сообщал еще Потебня (1915). Затем возбудитель этой болезни был изучен Бургвицем (1927). Детально цикл развития возбудителя бактериоза огурцов был установлен Горленко и Воронкевич. По их данным, болезнь в основном передается с семенами, причем инфекция здесь внутренняя. В остатках растений бактерии сохраняются только до их разложения. Ими же разработан метод протравливания семян препаратом НИУИФ-1 (1,3% раствор разводится водой из расчета 1 : 300, семена в растворе выдерживаются 10 минут). Калашников (1935) показал, что в теплицах болезнь развивается лишь при наличии капельно-жидкой влаги и при температуре не выше 19°. Поэтому проветриванием теплиц и поддержанием соответствующего температурного режима можно защитить огурцы от этого заболевания. Дискуссионным был вопрос о взаимоотношениях Bact. lachrymans Sm. et Br. и Scolecotrichum melophthorum Prill. et Del. Потебня (1915) впервые высказал мысль о том, что гриб развивается на бактериальных язвах. Сам же по себе он не может вызывать заболевание. Галачьян (1937) подтвердила это экспериментально. Однако по опытам Пименовой (1935) следует, что в условиях высокой влажности Sc. melophthorum Prill. et Del. может самостоятельно вызывать пятнистость плодов огурцов. Это было подтверждено в нашей лаборатории Шнейдером. По его данным, бактерии могут поражать лишь поврежденные плоды. Таким образом, названные два организма могут вызывать поражение огурцов самостоятельно.

На дынях Яцыниной (1939) описана бактериальная пятнистость листьев и плодов, которая вызывается приуроченной только к этой культуре разновидностью Bact. lachrymans Sm. et Bryan, выделенной ею в самостоятельную форму (forma melonis Jaczinina). На тыквах Бургвиц (1927) описал поражение цветов в теплицах, вызываемое Bac. mesentericus vulgatus Flügge.

Капуста. Гордиенко (1940) очень подробно исследовал сосудистый бактериоз капусты. Помимо ряда биологических вопросов, им разработана и проверена в производственных условиях хорошая система мероприятий по борьбе с этой болезнью. Применение ее почти полностью ликвидирует сосудистый бактериоз. Он же впервые показал, что на капусте в поле встречается два бактериоза — сосудистый и слизистый. Этот последний детально изучен Горленко и Воронкевич (1947). Ими доказано, что возбудителями этой болезни являются Bact. aroideae Tows. и Bact. carotovorum (Jones) Burgw. Болезнь не передается с семенами. Возбудители ее быстро (через 10—15 дней) гибнут в почве. Через зиму сохраняются на остатках больных растений, находящихся на поверхности почвы. Воронкевич (1947) в деталях изучила поведение Bact. aroideae Tows. в почве и предложила систему мероприятий для борьбы с слизистым бактериозом. Старыгина и Шишелова (1947) изучали возбудителя заболевания семенников капусты и пришли к выводу, что в возникновении этой болезни принимает участие ряд бактерий.

Лук. На этом растении лишь отмечено поражение Bact. crocі Mizaz (Взоров, 1938). Кроме того, замечено, что после повреждения луковиц луковой мухой развивается мокрая бактериальная гниль. Из таких загнивших луковиц выделена Bact. carotovorum Jones.

Морковь. Очень интересные данные получены Синициной о бактериальном заболевании моркови в Таджикистане. Там эта болезнь вызывается Bact. destructans (Potter) Nacata. Вред от нее очень велик. Яцынина нашла сперва в Казахстане, а затем в Воронежской области поражение листьев моркови Bact. carotae (Kendr.) Burgw.

Свекла. На столовой свекле местами приносит вред Bact. beticolum Sm. Br. Tows., вызывающая «туберкулез» корнеплодов (Бурыхина, 1945; Яшнова, 1947).

Бактериозы зерновых бобовых. Наиболее подробно и полно здесь изучены бактериозы фасоли. Много по этой группе заболеваний работали Галачьян (1939) и Артемьева (1938). В условиях СССР на фасоли выявлено несколько возбудителей бактериозов. Из них чаще встречается на обыкновенной фасоли Bact. phaseoli Smith, затем следует Bact. phaseoli v. fuscans (Burkh.) Burgw., Bact. medicaginis v. phaseolicola (Burkh.) Link. et Hall. На других видах отмечено также наличие Bact. vignae Gardn. et Kendr. Основным источником заражения фасоли бактериозами являются семена, причем инфекция здесь находится настолько глубоко, что до сих пор не найдено эффективных способов их обеззараживания. Галачьян (1939) изучала устойчивость сортов фасоли к бактериозам. Зажурило (1936) впервые в Воронежской области выявил поражение гороха бактериозом. Эта болезнь затем указывается как весьма вредоносная в Барнауле (Бурыхина, 1945).

Бактериозы кормовых бобовых. В период с 1939 по 1941 г. появился ряд статей, в которых указывается, что люцерна, а местами и донник страдают от Bact. insidiosum (McCull.) Stapp. Интерес к этой болезни был настолько велик, что Институт хлопководства в Ташкенте выпустил целый сборник переводных статей по этому вопросу (под редакцией Н. Г. Запрометова).

В 1931 г. Жаворонкова описала новую болезнь корней люцерны и ряда других бобовых, которая, по ее мнению, вызывается новым для науки видом бактерий (Bact. radiciperda Javor.). Однако этот вид настолько близок к Bact. insidiosum (McCull.) Stapp., что, вероятно, мало основания для выделения его в самостоятельную единицу. Мейер (1934) в Уфе нашел поражение клевера Bact. trifoliorum J. W. W. McCull.

Бактериозы картофеля. У этой культуры изучались кольцевая гниль, увядание, черная ножка, гнили во время хранения. Наиболее подробно изучалось первое заболевание. Возбудителем этой болезни в северной и средней полосе СССР является Bact. sepedonicum Spieck. Впервые наличие этого микроба в СССР отмечено Беленьким (1940). Очень плодотворно кольцевую гниль изучал коллектив сотрудников лаборатории бактериозов Московского филиала Всесоюзного института защиты растений совместно с Институтом картофельного хозяйства. Ими было установлено географическое распространение болезни, изучен возбудитель, его биохимические и серологические свойства, цикл развития в природе. Белова (1940) выявила так называемую ямчатую форму кольцевой гнили. Она считает, что заражение картофеля Bact. sepedonicum Spieck. происходит осенью. В результате этого поражения через несколько месяцев под кожицей клубней появляются небольшие вдавленные пятна, которые постепенно углубляются, доходят до сосудистого кольца и тогда туда проникают бактерии, вызывающие увядание растений. Следовательно, основное заражение растений происходит осенью, причем легче заражаются молодые или чем-либо поврежденные клубни. В соответствии с установленным циклом развития Белова предлагает оригинальную систему мероприятий по борьбе с кольцевой гнилью. Интересные и ценные данные Беловой подтверждаются в нашей лаборатории Кукиным.

По черной ножке до недавнего времени мы имели главным образом статистические сведения о распространении болезни, а также данные о влиянии ряда приемов агротехники на степень поражения ею картофеля. Коротковой на Ленинградской селекционной станции проведена интересная работа по биологии возбудителя черной ножки. Ею доказано, что болезнь не передается через почву, а основным способом ее распространения являются посадочные клубни. При этом заражение клубней возможно осенью во время уборки. Короткова также разработала методику оценки сортов на устойчивость к этой болезни и провела изучение большого числа сортов и видов картофеля в отношении их поражаемости черной ножкой.

Бельтюкова (1938) изучила микрофлору сосудистых пучков картофеля на Украине, выявила новый вид бактерий, вызывающий поражение сосудов клубня, а также установила, что яровизация клубней способствует повышению устойчивости их к гнилям во время хранения[4].

Бактериозы плодовых деревьев. Из этой группы болезней наибольшее число работ опубликовано по корневому раку Bact. tumefaciens Sm. et Tows. Однако все они содержат лишь сведения о распространении болезни. Экспериментально возбудителя этой болезни изучали Израильский (1928) и Капшук (1938). Весьма ценны работы Яковлева (1933) по вредоносности болезни. Автор показал, что для деревцев, пересаженных в сад, наличие опухолей не отражается на их дальнейшем развитии. В этом направлении интересны работы Лопатина (1939). Он установил, что вишни в условиях засухи сильно угнетаются корневым раком. Большие работы по дезинфекции больных саженцев проведены Волошиновой (1930), потратившей много лет на изучение корневого рака. Кроме сказанного, корневой рак изучался для решения ряда общих вопросов (работы Израильского, 1928; Каляева, 1935; Нестеровой, 1939; Смирновой, 1935; Виноградовой и Першиной, 1937).

Из других работ по бактериозам плодовых следует отметить исследования В. И. Сербинова (1940) по Bact. pruni Sm., Израильского и

[4] Сходный прием позднее у Дунина получил название светозакалки («Проращивание и светозакалка семенного картофеля под открытым небом», Калинин, 1944).

Степуниной (1940) по Bact. cerasi Griff. и Мирзабекян (1946) по Bact. armeniacum Panos. et Mirs. Последний вид описан Паносян и Мирзабекян (1940) как новый и известен пока только в Армении. Там же Авакян (1945) изучила интересное поражение плодов абрикосов, возбудителем которого оказался Bac. mesentericus vulgatus Flügge,— своеобразный пример перехода сапрофита на паразитический образ жизни.

Обзор распространения различных бактериозов плодовых в СССР дал Горленко (1946). На основании анализа литературы он считает, что в пределах нашей страны нет Bact. amylovorum Sm., то же, что считалось за поражение этой бактерией, в действительности вызывается Bact. cerasi Griff.

Изучение бактериозов цитрусовых начато совсем недавно. В настоящее время установлено, что цитрусовые у нас поражаются Bact. citriputeale C. Smith (некроз). Рак цитрусовых Bact. citri Doidg. в СССР отсутствует. Проведен ряд работ по изучению мер борьбы с некрозом цитрусовых (Американов, 1941; Гогвадзе, 1940, и др.). Серия обследовательских работ показала, что в нашей стране нет туберкулеза маслин.

В 1931 г. Запрометов обнаружил в Средней Азии бактериоз шелковицы [Bact. mori (Lamb. et Boyer) Smith]. С тех пор он, а также Израильский, Старыгина и др. (1940) подробно исследовали это заболевание. Оно стало, пожалуй, одним из наиболее изученных из числа бактериозов, известных в СССР.

Бактериозы прочих культур. Из них изучались бактериозы кориандра (Клапцова, 1940), каучуконосов (Калиненко, 1939, и др.), левкоев (Струминская и Першина, 1941), льна (Березова и Савченко, 1935), ириса (Кублановская, 1937), гречихи (Салтыковский, 1939), арахиса (Вачнадзе, 1940).

Мы с возможной полнотой сделали сжатый очерк результатов работ по изучению бактериозов растений в СССР. Подводя итоги сказанному, можно сделать ряд обобщений:

1. Изучением бактериозов занимаются уже не одиночки, а целые коллективы. Почти каждый из коллективов имеет свое специфическое направление в работе. Это обеспечивает всестороннее изучение разбираемой проблемы.

2. Достаточно широко разрабатывался ряд общих вопросов учения о бактериозах. К наиболее разработанным надо отнести вопросы диагностики, географического распространения, отчасти бактериофагии и антагонизма. Слабо разработаны вопросы иммунитета растений к бактериозам. Взаимоотношения фитопатогенных бактерий с окружающей средой начали лишь изучаться. Эти важнейшие вопросы должны быть в центре внимания будущих исследований.

3. Из бактериозов отдельных культур наиболее ценные работы произведены по гоммозу хлопчатника, бактериозам табака, злаков, томатов, огурцов, капусты, картофеля, зернобобовых. По всем этим заболеваниям имеются весьма важные результаты работ, позволяющие уже сейчас проводить эффективные мероприятия по борьбе с ними. Изучение бактериозов этих культур шло в нашей стране вполне оригинальными путями. Почти по всем этим болезням возможно в самое ближайшее время разработать системы мероприятий.

4. Работы по географическому распространению бактериозов выявили ряд новых весьма вредоносных заболеваний из этой группы, изучение которых стоит на очереди.

Как видно, сделано не мало. Однако перед нами стоит еще много вопросов как по линии изучения самих фитопатогенных бактерий, так и по линии взаимоотношения их с растениями-хозяевами, почвенной

микрофлорой, насекомыми и т. д. Последнее направление нам кажется наиболее плодотворным, могущим дать очень ценные практические и теоретические результаты.

Московский филиал Всесоюзного
института защиты растений

Получено 6.II.1948

ЛИТЕРАТУРА *

1. Авакян С. А. О новой болезни абрикоса. Докл. АН Арм. ССР, 3, № 4, стр. 113, 1945.
2. Американов П. П. Обеззараживание черенков цитрусовых в борьбе с бактериальным некрозом. Тр. Всес. инст. чайн. пром. и субтроп. культуры, 1, стр. 47, 1941.
3. Артемьева З. С. Определение Apl. michiganense методом окраски тканей растений по Граму. Микробиология, VII, № 5, стр. 635, 1938 (см. также ее работу по бактериозам фасоли, Микробиология, VII, № 7, 1938).
4. Бабаян А. А. Перезимовка возбудителя гоммоза в пораженных остатках хлопчатника в главнейших районах СССР. В кн. Бабаян и Бежанян «Результаты изучения новых протравителей...» Изд. Арм. н.-иссл. хлопк. ст., стр. 2, 1939 (см. также другие его работы по гоммозу в Словаре «Русские ботаники», 1, стр. 100, 1947).
5. Беленький Д. Э. Возбудители бактериозов пшеницы, ячменя и картофеля и методы их обнаружения. Итоги работ ВИЗР за 1939 г., стр. 81, 1940.
6. Белова О. Д. Кольцевая гниль картофеля и меры борьбы с ней. Докл. ВАСХНИЛ, вып. 19, стр. 21, 1940.
7. Бельтюкова К. И. Влияние яровизации картофельных клубней на повышение невосприимчивости их к заражению гнилостными бактериями. Микроб. журн. АН УССР, V, № 2, стр. 153, 1938.
8. Бельтюкова. К. И. Антагонистические и стимулирующие действия Bac. mesentericus на возбудителя гоммоза хлопчатника. Микроб. журн. АН УССР, VII, № 1—2, стр. 209, 1940.
9. Бельтюкова К. И. и Попова А. А. Бактериальное увядание махорки, Тр. ВИТИМ, вып. 126, стр. 57, 1936.
10. Березова Е. и Савченко М. Бактериальные болезни льна. Микробиология, IV, вып. 1, стр. 103, 1935.
11. Бибердиева М. О бактериофаге Bact. mori — возбудителе бактериоза шелковицы. Микробиология, V, вып. 4, стр. 590. 1936.
12. Бургвиц Г. К. Бактериозы растений и работа отдела фитопатологии Гл. Ботанического сада по изучению их в СССР. Болезни растений, XVI, № 1, стр. 31, 1927.
13. Буромский И. Д. Слизистый бактериоз сахарной свеклы. Журн. сахарн. пром., V, № 7—8, стр. 414, 1931.
14. Вачнадзе М. Л. Бактериоз на семенах арахиса. Изв. Груз. оп. станции защиты растений, № 2, стр. 258, 1940.
15. Вердеревский Д. Д. Гоммоз хлопчатника. Союз НИХИ, Ташкент, 46 стр., 1938. См. другие его работы по тому же вопросу в словаре «Русские Ботаники», II, стр. 81, 1947.
16. Взоров В. И. О состоянии работ по изучению бактериозов сельскохозяйственных растений. Тр. ВАСХНИЛ, сер. 1, вып. 3, стр. 29, 1936.
17. Взоров В. И. Состав и распространение бактериозов с.-х. растений в Советском Союзе. Изв. Ростовской СТАЗРА, № 9, стр. 87, 1938.
18. Виноградова О. С. и Першина З. Г. Профилактическое действие бактериофага на образование корневого рака, вызываемого Bact. tumefaciens. Бюлл. эксп. биол. и мед. 4, № 3, стр. 284, 1937.
19. Воронкевич И. В. Слизистый бактериоз капусты. Сад и огород, № 3, стр. 34, 1947.
20. Галачьян Р. М. Бактериоз злаков, вызываемый Bact. atrofaciens, и меры борьбы с ним. Микроб. сб. АН Арм. ССР, вып. 2, стр. 65, 1946 (См. также ее работу по бактериозам фасоли. Докл. ВАСХНИЛ, № 14, стр. 17, 1939).
21. Галачьян Р. М. Вершинная гниль томатов в Армении. Изв. АН Арм. ССР, № 1, 1945.
22. Гогвадзе И. И. Ветрозащитные полосы в борьбе с цитрус-бластом. Сов. субтропики, № 9, стр. 57, 1940.
23. Гордиенко Ф. И. Природа и пути инфекции главнейших бактериозов капусты. Укр. н-иссл. инст. соц. земл., Харьков, стр. 1, 1940.

* Настоящий список далеко не исчерпывает русскую литературу по бактериозам растений. В основном указываются работы, цитируемые в тексте. Общий список работ по бактериозам, вышедших в СССР, включает свыше 400 названий.

24. Горленко М. В. Итоги изучения черного бактериоза пшениц. VII пленум секц. защ. раст. ВАСХНИЛ. Тезисы докл., стр. 29, 1939. См. др. работы по тому же вопросу в словаре «Русские Ботаники», II, стр. 333. 1947.
25. Горленко М. В. Бактериальные болезни плодовых насаждений в СССР, XIV пленум секц. защ. раст. ВАСХНИЛ. Тезисы докл., стр. 27, 1946.
26. Горленко М. В. Очерк географического распространения бактериальных болезней растений в СССР. Бюлл. Моск. об-ва исп. природы. Отдел биологии, 51, № 2, стр. 61, 1947.
27. Горленко М. В. и Воронкевич И. В. Изучение слизистого бактериоза капусты. II. Микробиология, XVI, № 4, стр. 307, 1947.
28. Грушевой С. Е. О мерах борьбы с бактериальной рябухой табака. Табачн. пром., № 1, стр. 27, 1935.
29. Грушевский В. К. и Грушевский Н. К. Экспериментальный цех централизованного протравливания (ЭЦПГ-1) хлопковых семян в борьбе с гоммозом. Вестн. защ. раст., № 4, стр. 104, 1940.
30. Жаворонкова И. П. Бактериальная болезнь корней клевера. Семеноводство, № 2, стр. 51, 1930.
31. Зажурило В. К. Бактериозы зерновых бобовых культур и их вредоносность. Итоги работ ВИЗР за 1935 г., стр. 121, 1936.
32. Запрометов Н. К материалам по фенологии и вредоносности бактериоза шелковицы. Тр. Ср. Аз. инст. шелков., вып. 14, стр. 5, 1937.
33. Израильский В. П. Явление бактериофагии и рак растений. Вестн. бакт.-агрон. станции, № 25, 1928.
34. Израильский В. П. Бактериальный рак томатов. Сельхозгиз, 1938.
35. Калашников К. Я. Появление парши на сахарной свекле. Защ. раст., V, № 2, стр. 273, 1928.
36. Калашников К. Я. Экологическое обоснование защиты огурцов от бактериоза в теплицах. Защ. раст., 3, стр. 155, 1935.
37. Калиненко В. О. Бактериозы и фитогельминтоз тау-сагыза. Гостехиздат, 1934.
38. Капшук А. А. Бактериологическое изучение корневого рака. Изв. Сев.-Кавк. СТАЗРА, 1 (VIII), № 2, стр. 69, 1933.
39. Клапцова Н. К. Бактериоз кориандра. Вестн. с.-х. науки. (Технические культуры), вып. 2, стр. 93, 1940.
40. Кохановская Л. Исследования над рябухой на махорке. Защ. раст., V, № 5—6, стр. 609, 1929.
41. Кочура О. И. Возбудители дырчатой пятнистости сахарной свеклы. Научн. зап. ВНИС (агрономический выпуск), № 5—6, стр. 170, 1936.
42. Кубланов ская Г. М. Бактериальная гниль ириса и изменчивость фитопатогенных бактерий. Сов. ботаника, № 2, стр. 93, 1937.
43. Лебедева О. Н. и Бельтюкова К. И. Жизнеспособность и вирулентность Phytomonas tabaca в главнейших источниках инфекции. Тр. ВИТИМ, вып. 126, стр. 35, 1936 (этот выпуск трудов ВИТИМ включает, помимо указанной, также ряд других работ по болезням табака).
44. Лебежинская В. Д. К методике выделения фитопатогенных бактерий. Микробиология, IV, № 2. стр. 254, 1935.
45. Манфановская З. Н. Опыт получения агглютинирующихся сывороток для фитопатогенных бактерий. Изв. Ростов. СТАЗРА, № 9, стр. 92, 1938.
46. Морочковский С. Хвостовая гниль корней сахарной свеклы в Киргизии и Казахстане. Научн. записки по сах. пром., вып. 2, стр. 108, 1935.
47. Мирзабекян Р. О. Бактериоз абрикосовых деревьев в Армянской ССР, Докл. ВАСХНИЛ, № 5—6, 1946.
48. Муравьев В. П. Болезни сахарной свеклы и меры борьбы с ними. Свекловодство, III, ч. 2 (Бактериозы, стр. 251, 376), 1939.
49. Обермейстер Н. П. Явление бактериофагии. Бюлл. ВИТИМ, № 4, стр. 102, 1935.
50. Осницкая Е. А. Вершинная гниль плодов томатов. Плодоовощное хозяйство, № 7, стр. 66, 1937.
51. Першина З. Г. Бактериальное заболевание левкоев. Информ. бюлл. по вопросам карантина раст., № 3/9, стр. 29, 1940.
52. Пименова А. С. Изучение бурой пятнистости огурцов и изыскание мер борьбы с ней. Тр. с.-х. акад. им. Тимирязева, 1, № 8, 96, 1935.
53. Попова А. А. Приемы агротехники в борьбе с бактериальной рябухой махорки. Труды ВИТИМ, вып. 141, стр. 176, 1940.
54. Потебня А. А. Грибные паразиты высших растений Харьковской и смежных губерний. Харьк. обл. с.-х. оп. ст. Фитопатологический отдел, № 1, стр. 1, 1915.
55. Сербинов В. И. Пятнистость абрикосов и борьба с этим заболеванием. Тадж. н.-иссл. инст. виногр. и овощн. хоз., серия научная, вып. 1, Сталинабад, стр. 1, 1940.
56. Сербинов И. Л. Материалы к систематическому обследованию бактериозов с.-х. растений в связи с массовым развитием грибов Alternaria и Macrosporium. Защ. раст., IV, № 1, стр. 78, 1927.

57. Старыгина Л. П., Гольдин М. И. и др. Бактериоз шелковицы. Микробиология, XI, № 3, стр. 282, 1940.
58. Старыгина Л. П. и Шишелова Н. А. Бактериоз семенников капусты. Докл. ВАСХНИЛ, вып. 5, стр. 27, 1947.
59. Струминская Е. В. и Першин З. Г. Bact. citriputeale на левкоях. Справочн. по вопросам карантина растений. № 1, стр. 2, 1941.
60. Тверской Д. Л. Бактериальная пятнистость табака и махорки. Матер. по микол. и фитопатол., VIII, № 2, стр. 125, 1931.
61. Типограф Д. Я. К диагностике кольцевой гнили картофеля. Докл. ВАСХНИЛ, вып. 23—24, стр. 28, 1939.
62. Трунов Г. А. К изучению черного бактериоза озимой пшеницы. Зап. Харьк. с.-х. ин-та 11, вып. 1—2, стр. 551, 1939.
63. Федотова Т. И. Серологический метод определения устойчивости сортов хлопчатника к заболеваниям, Защ. раст., № 5, стр. 11, 1937.
64. Хетагурова Ф. В. Биологические особенности фитопатогенных бактерий. XVI Пленум секции защ. раст. ВАСХНИЛ. Вып. II, тезисы докладов, стр. 9, 1947.
65. Хетагурова Ф. В. и Олицкая А. В. К вопросу об антагонизме бактерий. Изв. Высш. курс. прикл. зоол. и фитопатол. вып. XII, стр. 310, 1941.
66. Яковлев Н. А. Зобоватость корней плодовых деревьев. Научн. инст. южн. плодово-ягодн. хоз., вып. 17, стр. 1, 1933.
67. Яцынина К. Н. Новый бактериоз дынь. Микробиология, VIII, № 6, стр. 755, 1939.
68. Яцынина К. Н. К выведению сорта томата, устойчивого к бактериальному раку. ДАН СССР, XXXII, № 5, стр. 372, 1940.
69. Ячевский А. А. Бактериальные болезни злаков, Тр. Инст. прикл. ботаники, XIV, стр. 377, 1925.
70. Ячевский А. А. Бактериозы растений. Сельхозгиз, 1935.

РЕФЕРАТЫ

Bondi Ir. A. and Dietz C. C. **The susceptibility of penicillinase producing bacteria to penicillin. 1. Factors influencing susceptibility. (Чувствительность к пенициллину бактерий, образующих пенициллиназу. 1. Факторы, влияющие на чувствительность).** J. Bact., 55, No. 6, pp. 843—847, 1948.

Известно, что энзим пенициллиназа обнаружен у многих форм бактерий. Авторы настоящей работы стремились выяснить степень устойчивости к пенициллину различных групп бактерий и выявить факторы, обуславливающие их устойчивость.

Были испытаны культуры Staphylococcus, Bac. anthracis, Bac. cereus, Bact. megatherium, относящиеся к группе грамположительных бактерий. Из группы грамотрицательных микробов были взяты Shigella disenteriae, E. coli, E. typhosa.

Выяснено, что организмы, производящие пенициллиназу, значительно отличаются между собой по их чувствительности к пенициллину.

Присутствие этого энзима у грамположительных бактерий, несомненно, способствует их устойчивости к пенициллину. Однако степень резистентности у этих бактерий зависит главным образом от скорости образования энзима в клетке.

Автор высказывает предположение, что устойчивость к пенициллину у грамотрицательных бактерий, помимо присутствия энзима пенициллиназы, определяется какими-то другими, еще не выясненными дополнительными факторами.

Л. Логинова

Gilson B. St. C. and Parner R. F. **Staphylococcal penicillinase: characteristics of the enzyme and its distribution. (Пенициллиназа стафилококка: свойства энзима и его распределение).** J. Bact., 55, No. 6, pp. 801—812, 1948.

Культуры Staphylococcus, выделенные из клинического материала, были отнесены к двум группам:

1) формы, не образующие энзим пенициллиназу или образующие очень незначительные количества (меньше, чем четыре единицы на грамм), и

2) формы активные — образующие 190 и более единиц на грамм.

Из 40 культур Staphylococcus, производящих пенициллиназу, 18 форм давали этот энзим от 190 до 25 000 единиц на грамм. В работе были испытаны культуры, являющиеся активными продуцентами пенициллиназы, на их устойчивость к пенициллину.

В результате проведенных опытов установлено, что при больших посевах (когда бралось клеток 10^{-8} на 1 мл) наблюдалась корреляция между содержанием энзима в клетках и его устойчивостью к пенициллину. Однако при малых посевах (когда бралось несколько сотен клеток в 1 мл) эта зависимость исчезала.

В настоящей работе были также проведены опыты с энзимом пенициллиназой, выделенным из клеток путем осаждения ацетоном и эфиром при низкой температуре.

Быстрота разложения пенициллина энзимом пенициллиназой зависит от времени и температуры, а также от концентрации энзима. Найдено, что одна единица этого энзима снижала концентрацию раствора пенициллина от 10 единиц на 1 мл до 5 единиц в течение 30 минут при 37° при pH = 7.

Л. Логинова

Gray W. D. **Further studies on the alcohol tolerance of yeast: its relationship to cell storage products. (Дальнейшее изучение устойчивости дрожжей к спирту: связь с запасными веществами клетки).** J. Bact., 55, No. 1, pp. 53—59, 1948.

Ранее этим же автором было показано, что дрожжи, культивировавшиеся на среде с относительно высоким содержанием глюкозы, приобретали способность энергично развиваться на данной среде. С повышением устойчивости дрожжей к сахару значительно увеличивалась их чувствительность к спирту.

В данной работе автор пытался установить, имеется ли зависимость между содержанием запасных веществ в клетке (главным образом жиров и углеводов) и их устойчивостью к спирту.

В работе были употреблены расы дрожжей Saccharomyces cerevisiae Hansen и Willia anomala Steuber, обладающие различной устойчивостью к спирту.

Опыты показали, что дрожжи, устойчивые к спирту,— содержали в клетках меньше жиров и углеводов.

Так, Willia anomala № 20 — дрожжи, чувствительные к спирту,— содержали 24,27% углеводов (рассчитанных по глюкозе) и 6,84% жиров, в то время как Saccharomyces cerevisiae № 34 — спиртоустойчивые дрожжи — имели углеводов 15,62% и жиров — 2,53%.

В работе были испытаны также дрожжи, адаптированные к глюкозе. Будучи менее устойчивыми к спирту по сравнению с дрожжами, не адаптированными, они также содержали больше жира.

Аналогичная связь между содержанием жира в клетках и их устойчивостью к спирту была установлена у дрожжей, культивировавшихся в условиях аэрации. Аэрация способствовала увеличению содержания жира в клетке, при этом устойчивость к спирту у этих дрожжей снижалась. Значительно пониженная проницаемость клеточной оболочки к спирту у аэрируемых дрожжей также, вероятно, связана с содержанием жира в клетке

Л. Логинова

Just F. und Schnabel W. **Submerse Massenzüchtung von Bakterien auf nicht kohlenhydrathaltigen Nährstoffen. (Массовое выращивание бактерий в погруженных условиях на безуглеводных питательных средах).** Brantweinwirtschaft, Nr. 8. Apr. 1948.

Культуры бактерий, выделенные из почвы, выращивались при продувании воздуха на минеральной среде с добавлением в качестве источника углерода и энергии углеводородов (очищенный или сырой парафин, когазин). В течение 7—20 часов бактериальная масса увеличивалась в 3—5 раз (в пересчете на сухое вещество), причем на 1 г потребленного парафина образуется 1 г бактериальной массы. При постановке опытов в больших сосудах, выход бактериальной массы может выразиться в килограммах. Состав бактериальной массы: сырого протеина 32% (24—41%); сырого жира 46% (29—63%); неомыляемых 17% (9—3%); остаток после прокаливания 4—6%.

Опыты с крысами, которых в течение недели кормили картофельным крахмалом с добавлением 50% бактериальной массы, показали, что бактериальная масса хорошо ими усваивается.

Л. Осницкая

George M. and Pandalai K. **Significance of the gram test for bacteria in relation to penicillin bacteriostasis. (Связь между грам-тестом для бактерий и бактериостатическим действием пенициллина).** Brit. Med. J. May 29, pp. 1028—1029, 1948.

Авторами было найдено, что магниевая соль рибонуклеиновой кислоты в разведении от 1 : 2 500 до 1 : 5 000 играет в жизнедеятельности грамотрицательных организмов (Bacterium coli) ту же роль, что и нуклеиновая кислота в отправлениях грамположительных организмов, обеспечивая возможность их роста в присутствии пенициллина (12—17,5 ед./мл). Показана также обратимость действия пенициллина: культура, рост которой подавлен пенициллином, снова начинает развиваться после добавления рибонуклеата магния. В присутствии же одних ионов магния чувствительность Bact. coli к пенициллину повышается (в 2 раза).

Т. Борисова и *Е. Грищенко*

Spicer S. and Blitz D. **A study of the response of bacterial populations to the action of penicillin; a quantitative determination of its effect on the organism. (Изучение чувствительности бактерийных популяций к действию пенициллина; количественное определение его влияния на организм).** The Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 33, No. 4, pp. 417—429, 1942.

На основании своих опытов авторы приходят к выводу, что пенициллин в концентрациях, которые можно поддерживать в теле больных, разрушает чувствительные к нему бактерии, растворяя их или воздействуя иным способом. Тем не менее определенная часть бактерий всегда выживает — даже при весьма высоких концентрациях антибиотика. Так, при 60 ед./мл остается в живых 1/5 часть Streptococcus viridans и 1/135000 часть Staphylococcus aureus. Однако размножение уцелевших особей в присутствии антибиотика прекращается. Пенициллин оказывает одинаковое по силе угнетающее действие на рост выживших бактерий в весьма широких концентрационных пределах. Например, для Str. viridans от 0,46 ед./мл до 60 ед./мл и выше и для Staph. aureus от 0,06 ед./мл до 60 ед./мл и выше.

Т. Барисова и *Е. Грищенко*

Konolaty W., Junowicz-Kocholaty R., Kelner A. **Actinomycin A produced by a soil Actinomyces different from Actinomyces antibioticus. (Актиномицин А, выделяемый почвенным Actinomyces, отличным от Actinomyces antibioticus).** Archiv Biochem., 17, No. 1, pp. 191—193, 1948.

Авторы выделили из необработанной почвы культуру актиномицета, продуцирующую подобно Actinomyces antibioticus актиномицин А. Культура определена как Actinomyces parvus Krainsky и отличается энергичным ростом и спорообразованием на многих средах, а также выделением больших количеств растворимого в воде желтого или желто-оранжевого пигмента (A. antibioticus выделяет коричневый пигмент). На среде, содержащей в 1 л дестиллированной воды, 5 г бактотриптона, 10 г церулезы, 2 г K_2HPO_4, 2 г NaCl и 2,5 г агара, продуцирование актиномицина А достигает своего максимума (2 000 ед./мл) на 6—8-е сутки, pH среды при этом равен 8,0—8,2.

Т. Борисова и *Е. Грищенко*

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

Токин Б. П. Фитонциды. Очерки об антисептиках растительного происхождения. Изд. Академии Медицинских Наук, Москва, 1948.

Новая книга проф. Б. П. Токина о фитонцидах представляет выдающийся интерес. Это книга об одном из оригинальных достижений советской биологической науки последних лет. Центральная идея исследований Токина заключается в том, что фитонциды — это защитные, антимикробные вещества растений, являющиеся одним из важных факторов естественного их иммунитета. С первого взгляда может показаться, что в этих представлениях не содержится чего-либо принципиально нового. Давно известно, что устойчивость растительного организма против микробных инвазий и инфекции связана со сложным комплексом многообразных защитных приспособлений, в число которых входят морфологические, анатомические, физиологические и биохимические особенности организма. В качестве химических защитных сил растений указывались дубильные вещества, свободные кислоты, смолы, бальзамы и др. В отдельных случаях удавалось обнаружить в тканевых соках растений вещества, аналогичные преципитинам, агглютининам и лизинам животного организма. Поэтому законно спросить: что же нового в этом вопросе вносят исследования по фитонцидам? Это новое может быть в наиболее кратком виде формулировано следующим образом.

1. Вместо признания химических защитных сил от случая к случаю в отношении отдельных видов растений, где эти факторы проявляются наиболее резко, Токин развивает общее учение о химических защитных приспособлениях растительных организмов.

2. В основу этого учения положена идея о том, что продукция антимикробных веществ является универсальным свойством растений. Правильность этого представления доказывается как открытием совершенно новой группы антимикробных веществ (летучих фитонцидов), так и установлением широкого распространения среди растений фитонцидных тканевых соков.

3. Устанавливается приспособительное, эволюционное значение антимикробных веществ для продуцирующих их растений.

4. Намечаются совершенно новые вопросы о значении антимикробных веществ в экологии микробных, растительных и растительно-животных биоценозов.

Как во всяком новом учении, в теории фитонцидов еще много неясных и нерешенных вопросов, еще ряд взглядов находится в стадии кристаллизации, и анализ слабых и сильных сторон этого учения мог бы содействовать дальнейшему его развитию. В настоящей рецензии делается попытка рассмотреть некоторые биологические проблемы фитонцидов с позиций микробиолога.

1. Терминология. Объем понятия. Классификация фитонцидов

Фитонциды — это, по определению Токина, группа веществ растительного происхождения, разнообразных по химическому составу, но объединяемых общностью своего действия на другие организмы: все фитонциды отличаются более или менее мощным протистоцидным, бактерицидным и фунгицидным действием. В этом понимании фитонциды тождественны с антибиотиками. Понятие фитонцидов было сначала применено только в отношении антимикробных веществ высших растений; антибиотиков — в отношении растений низших. Со временем оба понятия были распространены на все растительные организмы и стали тождественными.

Безусловно, сам по себе термин «фитонциды» нельзя считать удачным. И не только вследствие греко-латинского сочетания этого слова, но прежде всего в виду того, что аналогичный термин «гербициды» давно применяется для обозначения прямо противоположного понятия — веществ, убивающих высшие растения (сорняки). Кстати, и термин «антибиотики» не подчеркивает наиболее характерной биологической особенности этих веществ, того, что они не являются ядовитыми для живых организмов вообще, а действуют избирательно. Наиболее отвечает сущности фитонцидов и антибиотиков обозначение их как антимикробных веществ. В дальнейшем мы будем пользоваться терминами «фитонциды», «антибиотики» и «антимикробные вещества» как равнозначными понятиями.

При том широком понимании, которое придает фитонцидам Токин, в объем этого понятия входит всякое вещество того или иного растения, токсически действующее на какие-либо микроорганизмы. С этой точки зрения фитонцидами являются и эфирные масла эфироносов, тканевые соки лука, чеснока и многих других растений, раз-

личные алкалоиды, глюкозиды и другие антимикробные вещества, выделяемые из различных органов растений, антимикробные вещества, продуцируемые бактериями, грибами, актиномицетами и другими низшими организмами и т. д. и т. п. Возникает вопрос: оправдано ли объединение столь разнообразных веществ под общим названием фитонцидов? Бесспорно, наряду с общим для всех фитонцидов антимикробным действием между ними должны иметься существенные отличия. Разве может быть одинакова защитная роль тканевых соков растения, никогда не соприкасающихся с окружающим внешним миром и летучими антимикробными веществами, непрерывно поступающими из клеток растения во внешнюю среду? Или можно ли считать одинаковым защитное значение фитонцидов, экскретируемых надземными частями растений в атмосферу, и корневых фитонцидов, выделяемых в почву? Правомерность объединения всех продуцируемых растениями антимикробных веществ в единую группу фитонцидов относительна и отражает первоначальный этап их изучения, когда в различных явлениях подчеркиваются черты сходства. Обязательным следующим этапом научного анализа этих явлений необходимо признать разделение различных групп фитонцидов по особенностям их биологического действия. Разумеется, такая группировка может быть только результатом всестороннего исследования фитонцидов; но вместе с тем она является в предварительном виде необходимой предпосылкой такого исследования.

В качестве предварительной классификации, облегчающей рассмотрение биологической роли фитонцидов, представляется целесообразным прежде всего разделить все фитонциды на две большие группы: неэкскреторные и экскреторные. Неэкскреторные фитонциды отличаются той главной особенностью, что из неповрежденной клетки они никогда не поступают в окружающую среду. Эту группу фитонцидов можно в свою очередь разделить на такие, которые активны только в нативном состоянии, т. е. до тех пор, пока продолжается жизнедеятельность клетки, от которой они неотделимы, и на такие неэкскреторные фитонциды, активность которых непосредственно не связана с жизнедеятельностью клетки, а сохраняется после гибели последней или после искусственного их выделения из клетки. Вторая большая группа фитонцидов, названная нами экскреторными, включает два типа антимикробных веществ: специфически действующие (типа антител) и действующие неспецифически. Такое разделение, однако, не представляется достаточно обоснованным, так как о распространении в растительном мире специфически действующих антимикробных веществ типа антител известно еще крайне мало. С экологической точки зрения представляется целесообразным разделить группу экскреторных фитонцидов на подгруппы в зависимости от внешней среды, в которую они поступают: 1) экскреторные летучие фитонциды, поступающие в атмосферу; 2) водные фитонциды, выделяемые в водоемы, 3) эдафические фитонциды, поступающие в почву.

В схематическом виде предлагаемая предварительная классификация фитонцидов имеет следующие вид.

Фитонциды

(Растительные антимикробные вещества)

Неэкскреторные фитонциды	Экскреторные фитонциды (специфические — неспецифические)
1) Нативно-активные	1) Воздушные фитонциды
2) Внеклеточно-активные	2) Водные фитонциды
	3) Почвенные фитонциды

Нам кажется, что такая классификация фитонцидов (или какая-нибудь иная), основанная на важных с экологической точки зрения признаках, облегчает правильный анализ биологического значения этих веществ.

2. Фитонциды как защитные вещества растений

Не может подлежать сомнению, что защитная роль разных групп фитонцидов неодинакова. Эта сторона вопроса пока мало разработана, и в предварительном виде представляется возможным провести следующее разграничение.

Неэкскреторные нативно-действующие фитонциды

Эта группа фитонцидов представляет наибольшие трудности для экспериментального изучения, так как не может быть при существующих приемах выделена из клетки. Ряд фактов позволяет относить к этой группе фитонцидов жизнедеятельное плазменное содержимое клетки. Процесс жизни, выражающийся в непрерывном обмене плазменных белков с окружающей средой, неразрывно связан с антимикробной активностью живой протоплазмы, т. е. с ее способностью подавлять процессы жизнедеятельности чужеродных белков. С этой точки зрения, каждая живая клетка в силу

того уже, что она живет, является как таковая «фитонцидом», т. е. обладает антимикробными свойствами. Множество наблюдений убеждает в том, что наибольшей антимикробной устойчивостью обладают нормально жизнедеятельные клетки и ткани. Каждое ослабление жизнедеятельности клетки неминуемо ослабляет ее антимикробную устойчивость. Это общая закономерность, одинаково верная как для низших, так и высших растений. Факторами, ослабляющими жизнедеятельность микроба и понижающими его устойчивость против антимикробных веществ, выделяемых другими низшими или высшими организмами, могут быть: неблагоприятные условия питания и температуры, естественное старение культуры, действие наркотиков и пр. Аналогичные отношения наблюдаются и у высших растений. Фитопатологам хорошо известно, что искусственно вызвать поражение здорового растения нередко бывает очень трудно. Можно, например, здоровые корни пшеницы погружать в вирулентные культуры гельминтоспориума или фузариума и все же не получить заболевания этих корней гельминтоспориозом или фузариозом. Но стоит каким-либо путем добиться ослабления нормальной жизнедеятельности этих корней (действием повышенной температуры, недостатком кислорода для дыхания или иным путем), как те же корни легко становятся добычей ряда полупаразитных и сапрофитных грибов.

Тысячи подобных фактов убеждают, что само содержимое активной жизнедеятельной клетки обладает антимикробными свойствами. Возможно, что этот тип антимикробной устойчивости живой клетки обусловлен не только антибиотическими свойствами живых плазменных белков как таковых, но и некоторых неизвестных пока продуктов, продуцируемых в процессе метаболизма и непрерывно образующихся в активно жизнедеятельной клетке.

Описанный тип антимикробных защитных сил растительного организма можно рассматривать как филогенетически наиболее древний. В той или иной степени он, повидимому, присущ всякой живой клетке, растительной или животной.

Неэкскреторные внеклеточнодействующие фитонциды

Некоторые антимикробные вещества могут быть искусственно выделены из живых или убитых растительных клеток. К этим веществам относятся, например, активные ингредиенты тканевых соков лука, чеснока и многих других растений, образуемые различными видами растений алкалоиды, глюкозиды и другие продукты, обладающие антимикробным действием. До недавнего времени можно было думать, что антимикробные вещества этой группы имеют в растительном мире довольно ограниченное распространение. После исследований Токина такой взгляд уже не представляется правильным. Если не подлежит сомнению, что эта группа фитонцидных веществ широко распространена среди растений, то о биологическом значении этих продуктов и характере их защитного антимикробного действия in situ в природных условиях известно крайне мало. В качестве интересного примера действия представителей этой группы веществ можно упомянуть о данных Рейнольдса (1931), из которых следует, что устойчивость льна к поражению фузариозом зависит от содержания в тканях растений особого глюкозида линамарина. Пока такого типа исследования о защитной роли определенных веществ против определенных заболеваний растений и вызывающих их микробов не будут широко умножены, представления о защитном действии этой группы фитонцидов останутся в значительной мере только априорными и декларативными.

Экскреторные летучие фитонциды

До исследований Токина принималось, что эта группа фитонцидов также имеет довольно ограниченное распространение в растительном мире (эфироносные растения). Токин установил широкое распространение летучих (воздушных) фитонцидов у многих видов растений, относящихся к различным семействам. По мнению Токина, летучие воздушные фитонциды являются одним из защитных средств растения против микробных инвазий. Растение при помощи летучих фитонцидов создает как бы вокруг себя «стерильную зону», предохраняющую его от поражений фитопатогенными микробами.

Мы не знаем ни одного конкретного факта, позволяющего утверждать, что в природных условиях летучие фитонциды убивают какие-нибудь микроорганизмы. То обстоятельство, что in vitro они обладают сильным антимикробным действием, не доказывает, что и в природных условиях действие это такое же. Микроорганизмы воздуха находятся в состоянии недеятельном и содержат, повидимому, меньше воды, чем те же микробные клетки, но деятельные. В таком покоящемся состоянии микробные клетки отличаются повышенной устойчивостью против неблагоприятных внешних воздействий. Известно, например, что пенициллин очень слабо или почти не действует на неразмножающиеся бактериальные клетки. Летучие фитонциды растений встречают в воздухе главным образом микробные клетки, отличающиеся повышенной устойчивостью. Поэтому представляется мало вероятной возможность создания вокруг растений воздушных стерильных зон.

Возможно, что летучие фитонциды оказывают в природных условиях антибиотическое действие только на некоторых представителей воздушной микрофлоры, кото-

рые в условиях воздушной среды не повышают свою устойчивость, а понижают ее. Очевидно, этот вопрос требует дальнейших и обстоятельных исследований.

По Токину, воздушные фитонциды могут определять состав микроорганизмов воздуха. Вследствие неодинаковых фитонцидов, выделяемых различной растительностью, не исключено, что микробные ценозы лесного воздуха, лугового воздуха и т. д. различны. Эти взгляды также кажутся маловероятными. В качестве микробного местообитания воздух отличается от почвы и водоемов тем, что находящиеся в нем микроорганизмы активно не жизнедеятельны и не размножаются. Можно думать, что если первичный микробный состав воздуха в различных местах неодинаков, то вследствие особых физических условий устойчивости микроорганизмов в воздушной среде (например, по исследованиям Имшенецкого некоторые пигментные формы бактерий более устойчивы к ультрафиолетовой радиации) определенные виды микробов должны получить преобладание; с другой стороны, воздушные течения также содействуют установлению однородности воздушной микрофлоры. Поэтому сомнительно, чтобы воздушные фитонциды могли сколько-нибудь глубоко влиять на качественный и количественный состав микроорганизмов воздуха.

Экскреторные нелетучие фитонциды

Нельзя не согласиться с Токиным, что эта группа фитонцидов имеет большое экологическое значение. В нее входят: корневые антимикробные вещества растений, а также фитонциды, выделяемые растениями водоемов.

Корневые фитонциды. Разберем один конкретный пример. Сорта льна, восприимчивые к заражению Fusarium lini, и табака, восприимчивые к Thielviopsis basicola, содержат в своей ризосфере больше микроорганизмов, чем сорта тех же растений, но устойчивые к названным паразитам. Отличия между микронаселением ризосферы устойчивых и неустойчивых растений не ограничиваются количественными отношениями микроорганизмов, но простираются и на видовой состав их. Так, в ризосфере неустойчивых сортов льна более обильно представлены роды грибов Alternaria, Aspergillus, Cephalosporium, Fusarium, Helminthosporium, Verticillium, тогда как у устойчивых сортов преобладают Mucor, Cladosporium, Hymenula, Penicillium, Scolecobasidium, Trichoderma. Спрашивается: в силу чего возникают эти различия в составе микрофлоры? Если устойчивые и неустойчивые растения вырастить на искусственном питательном растворе и дать возможность последнему диффундировать через коллоидную перепонку в почву, то питательный раствор, в котором произрастали неустойчивые сорта, обусловливает большее развитие Fusarium, Helminthosporium, а питательный раствор из-под устойчивых сортов активирует развитие Trichoderma. Таким образом, становится очевидным, что устойчивые и неустойчивые сорта льна отличаются неодинаковыми корневыми выделениями, а последние обуславливают различный состав ризосферной микрофлоры. Ранее уже упоминалось, что устойчивые сорта льна отличаются значительным содержанием глюкозида линамарина. В результате гидролиза линамарина образуется цианисто-водородная кислота, экскретируемая корнями устойчивых сортов льна в почву. Интенсивность выделения корнями HCN довольно значительная. В искусственных культурах последняя обнаружена в количестве от 25 до 37 мг на растение. Замечательно, что добавление цианисто-водородной кислоты к питательным средам оказало такое же действие, как эффект от корневых выделений льна на микрофлору почвы. Именно: 8,2 мг цианистого калия в среде Кроне резко угнетали развитие Fusarium, но стимулировали развитие Trichoderma. Напомним далее, что лучшее развитие в ризосфере льна триходермы (выделяющей очень сильно действующий антибиотик — глиотоксин) обязательно сопровождается угнетением некоторых других грибов (например, пенициллов) и актиномицетов, антагонистом которых является триходерма.

Только что разобранный пример с устойчивыми и неустойчивыми сортами льна проливает некоторый свет на сложный механизм действия корневых фитонцидов. Из этого можно сделать следующие два вывода: 1) один и тот же корневой фитонцид может угнетать развитие одних грибов и стимулировать развитие других, 2) защитное действие корневого фитонцида может определяться не непосредственным его губительным действием на паразитный организм, а стимулированием развития непосредственно для растения безразличных грибов, но образующих свои собственные антимикробные вещества, ограничивающие агрессивность гриба-паразита. Такое косвенное защитное действие корневых выделений, основанное на концентрации в ризосфере определенной микрофлоры, уже в свою очередь действующей на паразитные микроорганизмы, представляется нам чрезвычайно важным для понимания микробных взаимоотношений в почве. Повидимому, этот тип взаимоотношений принадлежит к наиболее распространенным. При этом крайне важно то, что для реализации такого косвенного защитного эффекта вовсе не необходимо, чтобы корневые выделения высшего растения были фитонцидами, т. е. обладали антимикробными свойствами. Очевидно, такой же результат будет иметь место и в том случае, когда корни будут экскретировать некоторые продукты, стимулирующие развитие определенных микробов-антагонистов. Недоучет таких отношений легко может привести к тому, чтоб усмотреть действие корневых фитонцидов там, где в действительности их может не быть.

Водные фитонциды. Исключительно большой интерес имеют воззрения Токина о продукции фитонцидов растительностью водоемов. Повидимому, и здесь сущность экологических взаимоотношений не ограничивается только антимикробным действием растительных экскретов, а наряду с ним — также стимулирующим их эффектом. Весьма обоснованными кажутся представления о возможности обнаружения вокруг водных растений особых микробных зон, обязанных как прямому действию фитонцидов, так и положительному или отрицательному хемотаксису подвижных микроорганизмов под влиянием растительных экскретов. Можно полностью разделять оптимизм Токина, что будущие исследования в этой новой области сулят множество важных экологических открытий.

3. Биологическое значение антибиотиков низших растений

Американский микробиолог Ваксман высказал ряд сомнений по поводу того, можно ли продуцируемые микроорганизмами антибиотики считать защитными веществами и приписывать им значение в борьбе за существование этих микроорганизмов. Главные аргументы Ваксмана сводятся к следующему. 1) Нет прямых доказательств связи между продукцией микробами антибиотических веществ и их борьбой за питание или пространство. 2) Микробные антибиотики образуются в условиях специальных культур на определенных питательных средах, и сомнительно, чтобы они продуцировались в условиях почвы в количествах, достаточных для подавления других микроорганизмов. 3) Антибиотики в условиях почвы не могут быть устойчивыми, так как должны подвергаться быстрому разложению различными микроорганизмами. 4) Микробные антибиотики могут быть скорее всего случайными продуктами метаболизма микробной клетки.

Советские ученые с самого начала решительно высказались против этих антиэволюционных взглядов. В работах Токина, Имшенецкого, Гаузе приводится много данных, заставляющих отвергнуть воззрения на микробные антибиотики как на случайные продукты клеточного метаболизма, не имеющие значения в борьбе за существование. Наиболее существенные из этих доводов следующие.

1. Антибиотики образуются почвенными микроорганизмами не только в искусственных условиях специальных культур, но и в природных условиях, в самой почве. Так, например, по данным Гроссбарда (1948) Penicillium patulum образует патулин (он же — клавацин) непосредственно в почве, при наличии в последней усвояемых для гриба органических веществ. Отжатый почвенный раствор содержит патулин и угнетает развитие ряда бактерий, в том числе некоторых фитопатогенных. Заслуживает внимания указание автора на то, что отсутствие антибиотической активности почвенной вытяжки не всегда указывает на действительное отсутствие в почве антибиотиков, так как при малом содержании последних они могут быть адсорбированы.

2. Для защитной функции микробных антибиотиков в условиях почвы вовсе не обязательно, чтобы они продуцировались микробной клеткой в больших количествах. В природных условиях даже микродозы антимикробных веществ могут оказаться действенным фактором в борьбе за существование в тех микроскопических пространствах, которые имеют значение в жизни микроорганизма.

3. Для положительного значения антимикробных веществ в борьбе за существование не обязательно, чтобы эти вещества убивали чуждые организмы. Для этого достаточно минимальной продукции антибиотиков, которые, комбинированно с другими факторами почвы, оказали бы задерживающее действие на конкурирующие или вредные организмы.

4. Продукция определенными микроорганизмами антибиотиков не может, с общебиологической точки зрения, рассматриваться как свойство только определенных культур этих микробов. Свойством культуры является способность продуцировать данные антибиотики в повышенных количествах. В минимальных количествах этой способностью обладают все культуры данного вида.

5. Продукция антибиотиков не случайное свойство микробной клетки. Мы случайно знаем лишь некоторые, немногочисленные антибиотики. Действительный комплекс антимикробных веществ клетки значительно разнообразнее, чем «отголоски» этих веществ, которые стали нам известными.

Против взгляда на антибиотики как на случайные продукты говорит также открытие у некоторых бактерий пенициллиназы, специфического фермента, разлагающего пенициллин. С антидарвинских позиций невозможно понять, каким образом против «случайного» пенициллина некоторые бактерии вырабатывают специальный фермент. Наконец, то обстоятельство, что один и тот же антибиотик продуцируется многими видами и родами грибов, также говорит о неслучайности этого феномена. С другой стороны, у близких видов одного и того же рода наблюдаются нередко близкие по химической структуре антибиотики, как, например, у фузариумов. Так, яваницин (Fusarium javanicum), латеритин — $C_{26}H_{46}O_7N_2$ (Fusarium lateritium), авенацеин — $C_{25}H_{44}O_7N_2$ (Fusarium avenaceum), фруктегенин — $C_{26}H_{44}O_7N_2$ (Fusarium fructigenum), самбуцинин — $C_{21}H_{42}O_7N_2$ (Fusarium sambucinum) сильно отличаются по спектру антимикробного действия, но обладают общим типом строения. Из всех этих антибиотиков можно получить в качестве производной кристаллическую кислоту

формулы $C_5H_{10}O_3$, идентифицируемую как α-гидрооксиизовалерьяновая кислота, соответствующая *d*-валину. Такие данные указывают на существование определенных биохимических закономерностей в образовании антибиотиков. Назвать такие ряды генетически близких антибиотиков «случайными» образованиями так же невозможно, как считать «случайными» морфологические отличия видов в пределах одного рода. История науки знает немало примеров, когда явления, принимаемые за случайные, оказывались ключом к открытию совершенно новых закономерностей.

Однако было бы неправильно заключить, что в вопросе об адаптивном значении антибиотиков все уже ясно. Наоборот, кроме общего принципа, выяснено очень мало. Не надо забывать, что очень легко в общих словах постулировать принципы дарвинизма, но далеко не легко установить, как конкретно проявляется у определенных микроорганизмов их конкуренция в жизненной борьбе. Поэтому эволюционная концепция антибиотиков требует тщательной всесторонней разработки. Большой, в частности, интерес представляет сравнительное экологическое изучение продукции и действия антибиотиков в различных местообитаниях одного и того же микроба, отличающихся разной интенсивностью борьбы за существование. Пенициллы, например, широко распространены в почвах умеренного пояса и в тропиках, в песках песчаных пустынь и в высокогорных областях на выходах массивных кристаллических пород и среди примитивного мелкозема, образованного деятельностью лишайников. Изучение продукции и действия антибиотиков в этих столь различных местообитаниях поможет пролить свет на многие еще не ясные вопросы. Не менее важно для эволюционной концепции изучение изменчивости антибиотиков в пределах филогенетически связанных серий видов.

4. Фитонциды и ценозы высших растений

По воззрениям Токина, фитонциды играют большую роль во взаимоотношениях организмов в растительных ценозах.

Известно, что при определенном чередовании сельскохозяйственных культур уменьшаются некоторые паразитарные заболевания растений. Например, при посевах льна по клеверу уменьшается пораженность льна фузариозом; хлопчатник по люцерне меньше заболевает вилтом, чем хлопчатник по хлопчатнику. Понимание причин указанных явлений имеет немалое практическое значение. По мнению Токина, они могли бы найти удовлетворительное объяснение в том случае, если бы было доказано, что фитонциды, образованные предшествующей культурой, убивают или ослабляют соответствующие паразитные грибы. Возможность такого объяснения априорно нельзя отрицать. Но, как уже указывалось при обсуждении вопроса о прямом и косвенном действии корневых выделений растений на паразитные грибы, более вероятным представляется, что причина благоприятного действия определенных культур — предшественников — заключается скорее всего в косвенном влиянии их на отбор в ризосфере определенной микрофлоры. Известно, например, что ризосфера клевера и люцерны способствует огромному накоплению в почве миколитических бактерий — антагонистов фузариумов (Красильников, Березова и Наумова). Таким образом, указанные факты удовлетворительно объясняются без специального участия корневых фитонцидов.

По мнению Токина, фитонциды имеют немаловажное значение и в естественных растительных ассоциациях.

Он указывает на то, что, когда разные виды растений произрастают вместе в естественных ассоциациях, они более устойчивы против болезней, чем в условиях раздельного произрастания. По мнению Токина, не исключено, что тут мы сталкиваемся с явлением, когда фитонциды разных видов растений помогают друг другу. Этот вопрос представляет огромный общебиологический и практический интерес. По-видимому, не будет ошибочным считать, что сам факт такого взаимного благоприятствования широко распространен. Беда лишь в том, что в этой области много наблюдений «на глаз» и очень мало научно обработанного материала. Здесь можно указать на данные Вазудева (1942) из Индии, что корневая гниль хлопчатника, вызываемая Rhizoctonia или Macrophomina, проявляется в значительно меньшей степени при совместном посеве хлопчатника и сорго по сравнению с чистыми посевами хлопчатника. Объяснение таких фактов можно искать в двух направлениях: или допустить, как думает Токин, что корневые фитонциды сорго и хлопчатника помогают друг другу в борьбе с паразитами хлопчатника; или принять, что корневые выделения сорго содействуют накоплению в почве комплекса микроорганизмов-антагонистов возбудителей корневой гнили хлопчатника. Какое из этих объяснений является правильным, остается неизвестным. Как бы ни решился в дальнейшем вопрос о причинах взаимного благоприятствования разных видов растений, не подлежит сомнению, что эти проблемы намечают принципиально новые методы борьбы с некоторыми болезнями растений. Мысль Токина, что необходимы исследования по линии сознательной организации взаимопомощи культурных растений друг другу своими фитонцидами или (добавим от себя) микробными комплексами своих ризосфер, представляется крайне важной и актуальной.

5. Механизм действия фитонцидов

О механизме действия фитонцидов высших растений известно крайне мало или почти ничего. Морфологические картины гибели Protozoa под влиянием различных фитонцидов, которым Токин уделяет много внимания, характеризуют скорее свойства отдельных протозоа, чем особенности фитонцидов. Еще менее определенны имеющиеся сведения о морфологических и функциональных картинах гибели клеток бактерий под влиянием фитонцидов.

Необходимо полностью согласиться с Токиным, что изучение морфологии и физиологии гибели микробных клеток под влиянием фитонцидов высших растений представляет крайне важную задачу, решение которой связано со множеством практических проблем. Правильность этого подтверждается теми результатами, которые уже доставило изучение механизма действия антибиотиков микробного происхождения.

Одна из особенностей известных в настоящее время антимикробных веществ растительного происхождения — это избирательность их действия в отношении определенных микроорганизмов. Какова бы ни была химическая структура пенициллина из нее нельзя понять, почему он действует сильнее на грамположительные бактерии, чем на грамотрицательные. Точно так же химия пенициллина сама по себе не может служить основой объяснения, почему этот антибиотик очень сильно действует на Bacillus subtilis и очень слабо на Bacillus mycoides. Различное действие одного и того же антибиотика на разные микроорганизмы является биологическим индикатором не вскрытых еще различий биохимизма этих организмов. В антимикробных веществах физиология приобретает новый чувствительный метод установления очень тонких особенностей метаболизма различных микроорганизмов.

Для фитонцидов высших растений этого рода исследования еще впереди, и нет оснований думать, что они приведут к менее важным результатам.

Если огромны практические достижения настоящего времени, основанные исключительно на использовании уже готовых антимикробных веществ, изготовляемых микроорганизмами, то неизмеримо бо́льшие достижения откроются в будущем, когда микробиология выведает структуру и физиологическую тайну действия антибиотиков и научится обходиться без помощи микроорганизмов.

Еще более 50 лет назад, на заре развития почвенной микробиологии, светлый ум К. А. Тимирязева указывал такое направление развития нашей науки.

«Я полагаю,— писал Тимирязев,— что конечные результаты при изучении этих организмов должны свестись к тому, чтобы выведать у них их тайну, затем обойтись без их услуг, заменив их капризный витализм химизмом сознательной техники человека».

В этой рецензии нет возможности рассмотреть все интересные мысли, которые богато разбросаны в книге Токина. Но и приведенного материала достаточно, чтобы убедиться в важности трактуемых в ней вопросов.

Открытие новых фактов и явлений природы нередко соблазняет натуралиста на первом этапе анализа приписать им большее значение, чем они имеют в действительности. Может быть, Токин не всегда удачно избегает этой опасности. Может быть, его можно упрекнуть в том, что в ряде явлений, где он стремится увидеть действие фитонцидов, более вероятны другие объяснения. Может быть, некоторые взгляды автора теории фитонцидов покажутся более сдержанному читателю преждевременными. Не будем спорить о всех этих вопросах.

Автор учения о фитонцидах сам энергично подчеркивает недоказанность многих выдвинутых им взглядов и их временное значение.

Учение о фитонцидах уже в настоящем его виде является ценным вкладом в науку и ярким достижением советской биологической мысли.

Д. М. Новогрудский

М. В. Федоров. **Биологическая фиксация азота атмосферы.** Огиз — Сельхозгиз, 1948.

Объемистый труд М. В. Федорова посвящен весьма важному в теоретическом и практическом отношении вопросу. Плановое введение в сельское хозяйство Советского Союза травопольной системы земледелия, разработанной в классических трудах акад. В. Р. Вильямса, неразрывно связано с использованием в травосмесях бобовых компонентов, что в свою очередь заставляет думать о мероприятиях по интенсификации деятельности связывающих атмосферный азот бактерий. В силу этого же особое значение приобретают работы микробиологов по азотфиксации и по обобщению накопленного в данной области опыта.

Как сообщает в предисловии автор монографии, он поставил целью «...проанализировать современное состояние вопроса о механизме фиксации молекулярного азота бактериями и дать оценку значения этих бактерий в процессах превращения азотистых веществ в природе и возможностей их использования в сельскохозяйственной практике». Здесь же указывается, что книга рассчитана не только на специалиста-микробиолога, но и на широкий круг агрономических работников.

В основу книги положена докторская диссертация Федорова.

В настоящей рецензии мы должны выяснить вопрос, насколько удачно решена поставленная автором задача, а также каковы положительные и отрицательные стороны опубликованного труда, потребовавшего большой и кропотливой работы.

В монографии Федорова разобраны морфологические особенности, физиология, экология и практическое значение как клубеньковых, так и свободноживущих азотфиксирующих бактерий.

Без сомнения, в монографии Федорова имеется ценный материал. Но в основном в этой книге подробно разработаны только разделы, касающиеся близких автору вопросов о химизме фиксации микробами атмосферного азота и о влиянии азотобактера на урожай сельскохозяйственных растений. Хотя и здесь может быть сделан ряд частных замечаний, указываемых нами ниже, но в целом для специалистов микробиологов и биохимиков сообщаемые в этих разделах сведения безусловно интересны. Они, однако, слишком специальны для того, чтобы заинтересовать сколь-либо широкие круги агрономических работников, которые, основываясь на заглавии книги, будут ждать от нее большего — руководства к действию в условиях сельскохозяйственного производства. Между тем практическая часть книги оказалась безосновательно сокращенной и содержащей материалы, не превышающие сведений, обычно приводимых в учебниках для высших учебных заведений. Это придает отдельным частям книги резкий диссонанс по стилю и делает ее теоретический раздел весьма громоздким. По нашему мнению, работа вышла бы значительно более удачной, если бы в ней была оставлена только теоретическая часть. В существующем виде практические разделы уменьшают достоинство разбираемой работы. По ее ценности для работников сельского хозяйства она уступает вышедшей 15 лет назад книге Израильского, Рунова и Бернарда: «Клубеньковые бактерии и нитрагин» (Сельхозгиз, 1933).

Подсчитывая листаж, посвященный в работе отдельным разделам, находим, что из 400 страниц около 140 отведены вопросам химизма азотоусвоения, лишь около 30 страниц уделены практике изготовления бактериальных удобрений, их применению и эффективности, а остальные 230 страниц разбору различных материалов, касающихся азотфиксаторов. Этот подсчет подтверждает сделанное нами заключение.

Неправильным мы считаем и то, что азотобактеру отведено в книге около 250 страниц, а клубеньковым бактериям лишь 150 страниц. Как известно, практическая значимость клубеньковых бактерий больше, чем свободноживущих азотфиксаторов, и первой группе микробов посвящена несопоставимо более обширная литература. Поэтому основное внимание в книге следовало бы отвести клубеньковым бактериям.

К недочетам общего порядка, значительно уменьшающим достоинство книги, надо отнести слишком либеральное отношение автора к ряду исследований. К примеру можно отнести хотя бы цитируемую работу Ногтева (стр. 17), выводы которой, по всей видимости, основываются на методической ошибке. Возникает вопрос: зачем нужно было приводить более чем странные взгляды Бонда (стр. 120) о механизме передачи азота из клубеньков в растение, излагать на целой странице измышления путаника Шандерля (стр. 18) и т. д.? Подобных мест, не точно ориентирующих даже достаточно осведомленного читателя, в работе Федорова можно найти немало. Отмеченный объективистский подход и стремление дать возможно более полный перечень авторов подчас ослабляет, а не усиливает достоинства изданного руководства. Во многих местах к тому же не делаются определенные выводы из противоречивых показаний различных исследователей, что ставит читателя в затруднительное положение.

Мы должны также отметить, что ряд весьма ценных работ русских и советских исследователей по азотфиксации упоминается мимоходом или не отмечается совершенно. Так, например, если на стр. 18 какому-то Шандерлю, кроме порочно-фантастических измышлений ничего не давшему, посвящается целая страница, то классическим работам Виноградского (стр. 19) отводится всего несколько строк. Без сомнения, Федорову известны достаточно обширные работы, проведенные в Институте сельскохозяйственной микробиологии ВАСХНИЛ, Институте удобрений ВАСХНИЛ, Живаном в Днепропетровске, Цурюпой в Ростове-на-Дону и т. д., но о значительной части их ничего не сообщается. Правда, многие из этих работ находятся в рукописях, но они докладывались на совещаниях, и в монографии о них нельзя было не упомянуть. Это тем более было необходимо сделать, потому что некоторые из указанных работ отмечены Выставочным комитетом Всесоюзной сельскохозяйственной выставки, явившейся смотром достижений передовой практики и науки.

Вообще в монографии приведен достаточно подробный перечень мировой литературы, но отдельным исследованиям следовало бы уделить больше внимания. Так, например, много работ по взаимоотношению клубеньковых бактерий и бобовых растений было опубликовано Виртаненом (Финляндия). Эти работы вызвали оживленные споры, но в монографии Федорова о них говорится мимоходом. В то же время собственные исследования автора по развитию клубеньковых бактерий в сенном отваре, не представляющие принципиального интереса, излагаются почти в протокольной записи. Отмеченное проистекает, по нашему мнению, от недостаточно тщательной переработки диссертации в монографию. Последняя должна по стилю изложения существенно отличаться от диссертации.

Следует отметить, что автор местами перегрузил текст именами второстепенных исследователей, мало что давших науке. Их перечень затрудняет чтение и не способствует уяснению поставленных вопросов. Целесообразнее было бы, имея в виду лишь

библиографическую ценность упоминаемых работ, отметить их в списке литературы или дать на них указание в конце соответствующих глав.

В работе подчас недостаточно тщательно очерчено содержание отдельных глав. Так, в главе 3-й, посвященной механизму образования клубеньков у бобовых растений, много говорится о влиянии разных факторов на формирование клубеньков, что собственно должно разбираться в 4-й главе. Вопрос об активности клубеньковых бактерий рассматривается в разделе, посвященном выяснению роли внешних факторов в образовании клубеньков, и т. д.

В монографии мы встречаем местами формулировки, могущие спутать читателя. Так на стр. 119 читаем: «Исходя из того, что в это время клубенек наполнен жизнедеятельными бактероидами, следует думать, что бобовые растения усваивают не продукты переваривания бактерий, как это предполагали некоторые исследователи, а продукты их жизнедеятельности». Какое разъяснение может дать читателю подобное место о механизме передачи азота от бактерий растению!

На стр. 60 имеется такое место: «Тот же результат был получен и с убитыми корнями бобовых растений при сохранении жизнедеятельности их наземной массы. Заражение таких корней клубеньковыми бактериями не дало заметной фиксации азота атмосферы». У читателя невольно возникнет вопрос: как же мертвые ткани корней могли давать образование клубеньков? Подобных, не тщательно сформулированных мест можно найти достаточное количество.

Заканчивая на сделанных замечаниях разбор общих недочетов монографии Федорова, мы должны отметить, что они могли бы быть легко устранены, если бы издательство своевременно позаботилось о просмотре рукописи квалифицированными микробиологами, и обсуждением ее до сдачи в набор. Недостатки работы, не замечаемые ее автором, несмотря на его авторитетность, гораздо виднее со стороны.

Переходя к краткому разбору содержания отдельных глав и отмечая попутно их достоинство, мы можем сделать одновременно и ряд критических указаний. Начнем с введения, в котором разбирается значение биологической фиксации атмосферного азота и история открытия азотфиксирующих бактерий. По нашему мнению, оно составлено неудачно. Основной дефект состоит в том, что в нем не показано во всей широте значение проблемы азотфиксации для сельского хозяйства и не дается представления о состоянии работы по интересующему нас вопросу в Советском Союзе. На ряде замечаний менее принципиального порядка мы не можем здесь останавливаться, как и при разборе последующих разделов, из-за экономии места.

Глава 1-я «Морфология и общая физиология Bacterium radicicola» содержит достаточно основательный материал, но местами он не систематизирован. В частности, особого внимания заслуживают опыты Федорова по изучению спорного вопроса о фиксации азота клубеньковыми бактериями в чистых культурах. Здесь приводятся данные, показывающие способность Bact. radicicola усваивать атмосферный азот в условиях определенной среды. Методику этих опытов следовало бы описать более подробно, так как она определяет их достоверность.

К недочетам главы следует отнести нижеследующее: а) не дано четкого представления о том, что понимается под стадиями развития клубеньковых бактерий. Нужно было бы отметить, какие морфологические формы признаются нормальными и какие реактивными. При существующем изложении это не будет понятно. В связи с создавшимся положением для читателя неясно, что представляет собой «регрессивная» стадия развития бактерий, фильтрующиеся формы и т. д.; б) весьма поверхностно разобрана систематика клубеньковых бактерий по их отношению к хозяину-растению; в) при выяснении вопроса об ассимиляции клубеньковыми бактериями газообразного азота следовало бы разобрать относящиеся сюда работы Красильникова; г) не указана работа М. Ленис, весьма наглядно объясняющая ошибки ряда исследователей, изучавших азотоусвоение чистыми культурами клубеньковых бактерий; д) автор в ряде мест ссылается на существенную роль «коэнзима R» в развитии клубеньковых бактерий. Природа данного вещества в настоящее время выяснена.

Глава 2-я «Распространение Bact. radicicola в почве и влияние внешних факторов» включает круг существенных вопросов, рассмотренных весьма бегло. Она содержит всего 6 страниц. Здесь не приведены обстоятельные данные Бернарда, защищенные как кандидатская диссертация в 1946 г. Отсутствуют работы Красильникова и Кореняко по анализу поведения клубеньковых бактерий в ризосфере небобовых растений. Отмеченные пропуски не позволяют сделать автору сколь-либо определенное заключение о судьбе клубеньковых бактерий в севообороте. Последний же вопрос по вполне понятным причинам имеет большое практическое значение.

Глава 3-я «Механизм образования клубеньков у бобовых растений» в основном содержит материал, рассматривающий влияние различных факторов на образование клубеньков, чему посвящена 4-я глава. Собственно же механизму формирования клубеньков отведено из 20 страниц не более четырех.

Сообщая некоторые выводы, автор, к сожалению, уклоняется подчас от соответствующих указаний для практики. Так, например, остается неясным, следует ли хотя бы в некоторых случаях вносить под бобовые азот (как известно, это практикуется для семенных посевов). Нет четкого вывода и о комплексе мероприятий, способствующих азотонакопительной деятельности бобовых растений.

В главе имеются и некоторые неточности. Так на стр 77 отмечается, что клубень-

ковые бактерии размножаются только в клубеньках. Этому противоречат сведения, сообщаемые даже в других разделах разбираемой книги.

Глава 4-я «Влияние внешних условий на образование клубеньков у бобовых растений» страдает теми же общими недостатками, которые нами были отмечены при разборе предыдущего раздела.

В этой главе не нашли отражения работы Бернарда по анализу естественного заражения бобовых клубеньковыми бактериями, а также опыты Цурюпы и Живана по влиянию влажности на инокуляцию бобовых. В отмеченных исследованиях имеется ценный для теории и практики материал.

Краткая глава 5-я «Взаимоотношения между Bact. radicicola и бобовыми растениями» особых возражений у нас не вызывает.

Глава 6-я «Фиксация азота атмосферы Bact. radicicola внутри клубеньков бобового растения», разбирающая большой и важный раздел, изложена слишком бегло — всего на 6 страницах. Естественно, что здесь имеются существенные пропуски литературы. В частности, не отмечены весьма интересные опыты Красильникова по изменению природы клубеньковых бактерий. Данные работы опубликованы, и их следовало бы разобрать.

Чрезвычайно мало внимания уделено и вопросу «о влиянии бобовых растений на небобовые при их совместной культуре» (глава 7-я).

Как мы уже отмечали в замечаниях общего характера, практические вопросы применения нитрагина» (глава 8-я) и «проблема рационального использования клубеньковых бактерий в сельскохозяйственной практике» (глава 9-я) проанализированы более чем поверхностно. Эти разделы не могут рассматриваться как приближенное обобщение накопленного советскими учреждениями опыта по применению нитрагина.

В той части книги, которую Федоров отвел нитрагину (всего 14 стр.) и в которой не разбираются некоторые основные способы приготовления данного препарата, более 4 страниц отведено описанию одного из не столь существенных опытов автора по размножению клубеньковых бактерий на растительных субстратах. Аналогичная работа (давно опубликованная) была значительно раньше проведена Бернардом. О ней в книге не упоминается.

Проблема рационального использования нитрагина рассмотрена автором абстрактно, вне связи с организацией советского сельского хозяйства.

В данном разделе необходимо было бы остановиться на проблеме заражения клубеньковыми бактериями небобовых растений. На данную тему, как известно, не столь давно была защищена докторская диссертация Румянцевым. Надо было бы указать, что дал этот вопрос практике. Пятнадцать последующих глав отведены автором рассмотрению свободноживущих азотфиксирующих бактерий. Изложенный здесь материал полноценен, так как Федоров весьма много и продуктивно работал над рядом вопросов, связанных с физиологией азотобактера и его использованием в сельском хозяйстве. Разберем сущность основных разделов этой части книги.

В главе 10-й «Общая морфология азотобактера» кратко изложены основные особенности строения клетки рода Azotobacter. В данном разделе тем не менее пропущено фундаментальное исследование Красильникова о цикле развития азотобактера. Между тем это одна из более ценных работ последнего времени и она упоминается в списке литературы монографии. Не отмечено отношение автора к азотфиксирующему виду Azotomonas, описанному тем же Красильниковым.

По главе 11-й «Общая физиология азотобактера» мы могли бы сделать лишь небольшие частные замечания, но из-за экономии места мы их опускаем.

Основное внимание Федоров уделил химизму фиксации азота атмосферы азотобактером (главы 12—16). Здесь имеется несомненно интересный материал, обобщающий многолетние исследования автора монографии. По нашему мнению, однако, монография выиграла бы от несколько более лаконичного изложения отмеченных глав.

Федоровым выявлена энергия фиксации атмосферного азота на разных источниках углерода, установлена роль фосфора в данном процессе и при помощи метода блокировки получены данные, характеризующие природу катализатора процесса фиксации атмосферного азота. Он получил данные, позволяющие думать, что катализатор (сам или его носитель) имеет белковую природу и что непосредственное участие в связывании атмосферного азота принимает карбонильная группа.

Значительное внимание автор уделил разработке оригинальной теории процесса азотоусвоения бактериями и пришел к заключению, что в качестве первичного продукта образуются производные гидразинов с альдегидами. Эта теория хорошо объясняет не только экспериментальный материал самого Федорова, но и других исследователей, в том числе Виноградского.

По данным разделам могут быть сделаны следующие замечания.

Прежде всего не верно то, что впервые теорию о механизме азотфиксации предложили Готье и Дроэн (1892). Виноградский высказал по данному вопросу вполне определенное мнение еще в 1889 г.

Во-вторых, автор на основании опытов с блокировкой полагает, что катализаторы процесса азотфиксации и дыхательного процесса различны. Это заключение не убедительно, так как в клетке может быть несколько дыхательных систем и блокировка одной из них не подавляет деятельности других. Данный вопрос во всяком случае требует уточнения.

Насколько различно отдельные дыхательные системы могут относиться к блокирующим веществам, можно судить по опытам Бодэна и Бэлла (1934), показавшим, что KCN совершенно не приостанавливает дыхания яиц тутового шелкопряда, находящихся в состоянии диапаузы. В то же время цианиды полностью блокируют дыхание развивающихся яиц этого животного. Указанные факты легко объясняются тем, что организм обладает разными дыхательными системами, имеющими в отдельных фазах развития то основное, то подчиненное значение.

Небольшие главы 17-я («Распространение азотобактера в природе») и 18-я («Значение корневых выделений для фиксации азота атмосферы в почве») у нас замечаний принципиального порядка не вызывают.

19-я глава «Влияние корневых выделений на фиксацию азота атмосферы азотобактером в условиях монобактериальной культуры высшего растения» содержит описание проведенных автором опытов. На их основании можно сделать заключение, что азотобактер выделяет во внешнюю среду небольшое количество азотсодержащих веществ, доступных растению. Следует указать, что столь тщательно поставленных экспериментов нам известно очень мало, в силу чего данные Федорова представляют несомненный интерес.

В 20-й главе «Влияние азотобактера на азотный баланс почвы и урожай сельскохозяйственных культур при внесении его в почву вместе с органическими удобрениями» излагаются не вызывающие каких-либо сомнений оригинальные исследования автора книги. Здесь, однако, как и в последующей главе (21-я глава — «Азотоген и его использование в сельскохозяйственном производстве»), автор весьма уклончиво решает вопрос о путях использования данного препарата. На основании изложенного материала читатель не уяснит себе, стоит ли в настоящее время, а если стоит, то когда и как применять азотоген. Глава 21-я слишком краткая. Между прочим здесь автор не дал описания ряда широко используемых в настоящее время методов приготовления азотогена, ограничившись кратким разбором производства торфяного препарата.

Глава 22-я «Основы рационального использования азотобактера в сельскохозяйственном производстве» содержит ряд соображений о мероприятиях, необходимых для улучшения эффективности азотогена. С основными положениями автора можно согласиться. Нам кажется, однако, ошибочным то, что Федоров, ссылаясь на мнение Лопатиной, не придает никакого значения существованию экологических рас азотобактера. В подборе культур он советует руководствоваться лишь признаком активности.

Глава 23-я «Общая морфология и физиология Clostridium Pasteurianum» составлена довольно удачно и включает некоторые данные самого автора.

Книга завершается главой 24-й — «Значение азотфиксирующих бактерий в азотном балансе почвы».

В качестве приложения дается глава 25-я, в которой описывается новая модификация стерильной и монобактериальной культуры высшего растения. Этот раздел содержит ценные сведения.

Подводя итоги нашим замечаниям, мы должны заключить, что труд Федорова представляет интерес для относительно узкого круга микробиологов и биохимиков. Запросы агрономического персонала автором не были учтены.

Потребность в полноценном руководстве по бактериальным удобрениям для агрономического персонала вызовет, без сомнения, необходимость переиздания разобранной нами монографии в переработанном виде. Будет не плохо, если Федоров, весьма плодотворно работающий в области азотфиксации, при создании нового варианта своей монографии примет во внимание наши замечания.

Е. Н. Мишустин

РОМАН ВЕНЕДИКТОВИЧ ГИВАРТОВСКИЙ

1 июля 1948 г. после непродолжительной болезни в возрасте 81 года скончался старейший специалист в области технической микробиологии и технологии бродильных производств профессор Р. В. Гивартовский. Будучи по образованию химиком Р. В. Гивартовский тотчас по получению высшего образования специализировался в области технологии спиртового и дрожжевого производства. Свою научно-исследовательскую деятельность он начал в Москве в 1896 г. Его особенно интересовала технология начавшего тогда развиваться дрожжевого производства и ему он посвятил все 55 лет своей творческой работы. Изучая размножение дрожжей в небольших кустарных предприятиях, Р. В. Гивартовский полностью изучил биологию дрожжей в процессе роста на разных средах. Он стал создателем заводской дрожжевой промышленности, т. е. тех общепринятых способов обработки сырья, режимов работы чанов и методов выделения дрожжей, которые в настоящее время всюду практикуются и полностью освоены всеми заводами. Новые молодые кадры технологов, может быть, даже и не представляют, какие творческие усилия были в свое время вложены Р. В. Гивартовским, чтобы внедрить на зерно-дрожжевых заводах проточный способ производства дрожжей и тем самым повысить выход дрожжей с 30 до 45% (при расчете на сырье), а также заменить в 1927 г. зерновое сырье черной патокой — отходами свеклосахарных заводов, подобрать дрожжевые культуры для нашего сырья и получить высокие выхода дрожжей хорошего качества, тем самым значительно понизив еще в 1928 г. стоимость дрожжей.

Зорко следя за всеми успехами в области бродильных производств, Р. В. Гивартовский стойко боролся за усовершенствование технологии дрожжевого производства, используя для этого эрудицию теоретика и большой многолетний опыт заводского работника с большим практическим стажем заведующего производством Московского дрожжевого завода.

С 1931 г. Р. В. Гивартовский переключается на научно-исследовательскую работу в только что возникшем тогда отделе технической биохимии при Институте пищевой и вкусовой промышленности (переименованном позже в ЦНИЛБП) в качестве научного руководителя дрожжевого сектора, которым и оставался бессменно до конца своей жизни.

Свыше 28 научных трудов, напечатанных проф. Гивартовским, являются основой для производства дрожжей в СССР. Большое количество статей, помещенных в различных журналах, газетах, энциклопедических словарях и в виде отдельных изданий, служат для повышения квалификации молодых специалистов по дрожжевому производству.

Из крупных работ Р. В. Гивартовского широко известны его труды по получению этилового спирта из гидрола, по разработке методики производства кормовых и пищевых дрожжей из непищевого сырья, по выработке высушенных технически чистых культур дрожжей, по получению высококачественных пекарских дрожжей из сульфитных щелоков, по использованию остаточных дрожжей мелассово-спиртовых заводов.

В 1938 г. Р. В. Гивартовский был утвержден в ученой степени доктора технических наук и в ученом звании профессора.

В 1946 г. постановлением Совнаркома СССР он награжден Сталинской премией за работу по использованию непищевого сырья для выращивания кормовых дрожжей.

Р. В. Гивартовский до конца своих дней жил исключительно интересами избранной им специальности, сочетая теоретические знания с настоятельными требованиями внедрять научные достижения в повседневную заводскую практику, что особенно ценно именно для работника отраслевого научно-исследовательского учреждения. Он соз-

дал коллектив научных работников, любящих именно эту отрасль науки и так же, как он, сочетающих теоретические знания с знанием заводской технологии.

Пять лет назад вышла в свет «Технология дрожжевого производства» — учебник для высших учебных заведений. В этом оригинальном труде Р. В. Гивартовского суммированы: его теоретические и практические знания, научная работа его учеников, вся наша заводская технология, созданная по его инициативе и его творческими усилиями и отраженная в работах возглавляемого им дрожжевого сектора института. Эта книга, вышедшая в 1942 г. небольшим тиражом, является настольной книгой для всех специалистов в области дрожжевого производства.

Таким образом, имя проф. Р. В. Гивартовского тесно связано с историей развития такой отрасли промышленности, как производство пекарских дрожжей, ставшее из кустарного заводским и вступившее ныне на новый путь широкого развития как новая промышленность, производящая пекарские, пищевые и кормовые дрожжи из различного, в том числе и непищевого сырья,— путь, намеченный проф. Р. В. Гивартовским.

Коллектив дрожжевого сектора ЦНИЛБП, лишившийся своего бессменного руководителя, чтит память о проф. Р. В. Гивартовском, посвятившем этому делу всю свою творческую жизнь.

Е. А. Плевако

СОДЕРЖАНИЕ

Н. А. Красильников. Существует ли азотобактер в лишайниках? 3
М. О. Стрешинский. Антагонистические взаимоотношения между Penicillium notatum и Bacillus subtilis 7
М. Н. Мейсель и В. П. Уманская. О механизме действия на микробную клетку четвертичных аммонийных соединений 11
А. С. Нечаева. Глютатион в сушеных дрожжах 20
Е. Н. Мишустин и В. Н. Прокошев. Изменение состава почвенной микрофлоры в результате длительного применения удобрений 30
М. М. Кононова и И. В. Александрова. Участие целлюлозных миксобактерий в процессе гумификации растительных остатков. I. О биохимизме процесса разложения целлюлозы миксобактериями 42
И. Л. Работнова и Н. И. Пономаренко. Симбиотические бактерии лугового лисохвоста 54
Ю. И. Шнейдер. Этиология бурой (зеленой) пятнистости огурцов 62
Е. Т. Дикасова. Метод электрофореза в исследовании грены тутового шелкопряда на присутствие в ней вируса желтухи 67
М. В. Горленко. Итоги изучения бактериальных болезней растений в СССР за 30 лет (1917—1947). (Обзор) 71
Рефераты 82
Критика и библиография 84
Роман Венедиктович Гивартовский 95

А 01433 Подписано к печати 26 I 1949 г. Печ. л. 6+2 вклейки
Уч.-изд. л. 9,8 Тираж 4800 экз. Заказ 1935

2-я типография Издательства Академии Наук СССР. Москва, Шубинский пер., д. 10

Цена 9 руб.